Aus der Medizinischen Klinik der Philipps-Universität
Marburg/Lahn
(Direktor: Professor Dr. G.A. Martini)

DIE AKTIVITÄT DER ALKALISCHEN DÜNNDARM-PHOSPHATASE IM STUHL BEI ERKRANKUNGEN DES DÜNN- UND DICKDARMES

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

PETER CRAMER
aus Biebertal

Marburg 1979

Aus der Medizinischen Klinik der Philipps-Universität
Marburg/Lahn
(Direktor: Professor Dr. G.A. Martini)

DIE AKTIVITÄT DER ALKALISCHEN DÜNNDARM-PHOSPHATASE IM STUHL BEI ERKRANKUNGEN DES DÜNN- UND DICKDARMES

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

PETER CRAMER
aus Biebertal

Marburg 1979

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg am 20. April 1979

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. F. Neurath
Referent: Prof. Dr. F.G. Lehmann
Correferent: Prof. Dr. P. Ihm

MEINEN LIEBEN ELTERN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546024_0006

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung Bestimmung der alkalischen Phosphatase in biologischem Material und ihre Bedeutung für die Differentialdiagnostik.	1
1.1.	Vorkommen	1
1.2.	Multiple molekulare Formen	3
1.3.	Diagnostische Bedeutung	5
2.	Material	9
2.1.	Plazenta	9
2.2.	Dünndarm	9
2.3.	Stuhl	10
3.	Methoden	11
3.1.	Reagenzien und Substanzen	11
3.2.	Isolierung der alkalischen Phosphatasen, Gewinnung der Antiseren und Bestimmung der Enzymaktivitäten	12
3.2.1.	Isolierung der alkalischen Plazenta-Phosphatase	12
3.2.2.	Isolierung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase	13
3.2.3.	Isolierung der alkalischen Leber-Phosphatase	14
3.2.4.	Herstellung der Antiseren	14

		Seite
3.2.5.	Stuhlextraktion	16
3.2.6.	Bestimmung der Gesamtphosphatase, anschließende Differenzierung in alkalische Leber- und Dünndarm-Phosphatase	16
3.2.7.	Statistik	19
3.2.7.1.	Verteilungsanalyse	19
3.2.7.2.	Statistische Tests	20
3.2.7.2.1.	Kolmogoroff-Smirnow-Test (KST)	20
3.2.7.2.2.	H-Test	21
3.2.7.2.3.	U-Test	22
3.2.7.2.4.	Streuungsellipse	22
4.	Ergebnisse: Untersuchungen zur Methodik	23
4.1.	Präzipitation von alkalischer Dünndarm-Phosphatase durch ihre Antikörper	23
4.2.	Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl	24
4.2.1.	Intra-assay-Variation	24
4.2.2.	Inter-assay-Variation	25
5.	Klinische Ergebnisse Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Bestimmung in menschlichem Stuhl	26
5.1.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl von gesunden Personen	26
5.1.1.	Einzelmessungen von alkalischer Dünndarm-Phosphatase-Aktivität	26
5.1.2.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität in Wiederholungsbestimmungen	26

		Seite
5.2.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl von erkrankten Personen	27
5.2.1.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen	27
5.2.1.1.	Colitis ulcerosa im Schub	28
5.2.1.2.	Colitis ulcerosa in Remission	29
5.2.1.3.	Morbus Crohn	32
5.2.1.4.	Sprue	33
5.2.2.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase Aktivität im Stuhl bei Patientin mit Niereninsuffizienz	34
5.2.2.1.	Hämodialyse	34
5.2.2.2.	Peritonealdialyse	35
5.2.3.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase - Aktivität im Stuhl bei Mukosaschädigung durch Cytostatica und/oder Bestrahlung	36
5.2.3.1.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Verlauf bei zytostatisch behandelten Patienten	36
5.2.3.2.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Verlauf bei bestrahlten Patienten	41
5.2.3.3.	Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Verlauf bei kombinierter polychemotherapeutischer und radiotherapeutischer Behandlung	42
5.2.4.	Übrige Patienten	43
6.	Diskussion	46
7.	Zusammenfassung	56
8.	Abkürzungen und Enzyme	57

Seite

9. Tabellen 58

10. Abbildungen 93

11. Literaturverzeichnis 102

1. Einleitung

Bestimmung der alkalischen Phosphatase in biologischem Material und ihre Bedeutung für die Differentialdiagnostik.

1.1. Vorkommen

Alkalische Phosphatasen sind intrazelluläre Enzyme, die im alkalischen Bereich Phosphatgruppen übertragen. Sie können entlang des Konzentrationsgefälles bei Membranschädigung in das Blutplasma, in den Urin und in den Stuhl übergehen (11).

Im Darm ist die alkalische Phosphatase in der Mikrovillimembran der Darmmukosa lokalisiert; alkalische Phosphatasen sind histochemisch auch im Golgi-Apparat, den glatten retikulären Zysten und Restkörpern, den Lysosomen, dem endoplasmatischen Reticulum und der Kernmembran der Mikrovilli nachweisbar (11).

In der Leber werden alkalische Phosphatasen in allen Zellkompartimenten in hohen Konzentrationen gefunden (11). Beim Menschen werden mehrere alkalische Phosphatasen beschrieben, die sich durch unterschiedliche Lokalisation (hepatozellulär, cholangiozellulär) und sich durch unterschiedliches Verhalten bei der Ammoniumsulfat-Präzipitation auszeichnen (10). In der Mäuseleber wird die

alkalische Phosphatase in den Mikrovilli der Gallengangskanälchen gefunden, wo sie bis zur Basalmembran reicht (10). Histochemisch sind alkalische Phosphatasen in der Plasmamembran der Leukocyten, jedoch auch in geringeren Konzentrationen an der Kernmembran und an den äußeren Anteilen der Mitochondrien nachgewiesen.

Alkalische Phosphatasen der Nieren sind hauptsächlich in den Mikrocilli der proximalen Tubuluszellen lokalisiert (11).

In menschlicher Plazenta können alkalische Phosphatasen entlang der Plasmamembran, die die Mikrovilli begrenzen, gefunden werden (11). Zahlreiche genetisch determinierte Varianten werden beschrieben (11). Darüber hinaus können alkalische Phosphatasen in den Vesikeln der Syncytiotrophoblasten und an der Oberfläche derselben histochemisch lokalisiert werden (11).

Die in menschlichen Tumoren - möglicherweise durch De-repression des diese alkalische Plazenta-Phosphatase steuernden Genoms - synthetisierte alkalische Phosphatase ist biochemisch und immunologisch mit menschlicher alkalischer Plazenta-Phosphatase identisch (13).

In den Osteoblasten des Knochens kann ein hoher Gehalt an alkalischer Phosphatase nachgewiesen werden. Ob diese alkalische Phosphatase mit der bei der Ossifikation wichtigen Pyrophosphatase identisch ist, kann zu gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht sicher entschieden werden (31).

1.2. Multiple molekulare Formen

Die beim Menschen histochemisch und/oder durch Extraktion nachgewiesenen alkalischen Phosphatasen kommen in elektrophoretisch und chromatographisch nachweisbaren multiplen molekularen Formen vor. Inwieweit diese multiplen molekularen Formen verschiedenen Enzymindividuen, echten Isoenzymen, genetisch determinierten Varianten der alkalischen Phosphatase, einer echten Mikroheterogenität oder Artefakten durch Polymerisation (Assoziations- und Dissoziationsprodukten), allosterischen Effekten, Abspaltung von Polypeptid- oder Kohlehydratanteilen (Neuraminsäure) oder einer Aggregation mit anderen Serumproteinen zuzurechnen sind, kann jetzt noch nicht entschieden werden. Es ist wahrscheinlich, daß es sich zumindest bei der Plazenta- (Tumor-), Dünndarm- und Leber-Phosphatase um echte genetisch determinierte Isoenzyme mit unterschiedlichen primären und darauf folgenden sekundären und tertiären Proteinstrukturen handelt (22). Möglicherweise lassen sich Knochen-Phosphatasen, Nieren-Phosphatasen, Pankreas-Phosphatasen und Leukocyten-Phosphatasen in dieses Schema nach weiteren biochemischen und immunologischen Untersuchungen ebenfalls einordnen (21,22).

Alkalische Phosphatasen sind Dimere und bestehen somit aus zwei identischen oder zwei nicht identischen Untereinheiten. Immunologisch lassen sich zumindest zwei verschiedene Systeme der alkalischen Phosphatasen unterscheiden: Das System der Dünndarm- und Plazenta-Phosphatasen zeigt immunologisch keine Verwandtschaft mit Leber-, Knochen- und Nieren-Phosphatasen (22,23). Immunologisch zeigen Plazenta- und Dünndarm-Phosphatasen eine enge Verwandtschaft: Antikörper gegen Dünndarm-Phosphatase präzipitieren Plazenta-Phosphatase, Antikörper gegen Plazenta-Phosphatase fällen Dünndarm-Phosphatase im Antigen-Antikörper-Äquivalenzbereich aus (10,19,22,33). Absorption mit den herologen Antikörpern erlaubt jedoch die Herstellung monospezifischer, absorbierter Antidünndarm- bzw. Antiplazenta-Phosphataseseren (22). Daraus kann geschlossen werden, daß möglicherweise in der dimeren Struktur der Plazenta- und Dünndarm-Phosphatase eine gemeinsame Untereinheit vorliegt. Die beiden anderen Untereinheiten wären demnach different. Mit Antileber- und Antinieren-Phosphataseseren lassen sich an Dünndarm- und Plazenta-Phosphatasen ebenso wie mit Antidünndarm- und Antiplazenta-Phosphataseseren bei Reaktion mit Leber-, Knochen-, Pankreas- und Nieren-Phosphatasen keine gemeinsamen antigenen Determinanten nachweisen, so daß die in Plazenta- und Dünndarm-Phosphatasen nachgewiesenen Untereinheiten nicht in den anderen oben genannten Phosphatasen vorkommen.

Ausdruck der Heterogenität der alkalischen Phosphatasen, die zum Teil wahrscheinlich echten Isoenzymen entspricht, ist die unterschiedliche Thermostabilität, das unterschiedliche pH-Optimum, die unterschiedliche Hemm- und Aktivierungseigenschaften bei Zugabe von L-Phenylalanin, L-Tryptophan, L-Homoarginin, L-Leucin, Lävamisol, Imidazol und Harnstoff (11) sowie das unterschiedliche Verhalten in der Elektrophorese nach Behandlung mit Neuraminidase (21).

Das Molekulargewicht der meisten alkalischen Phosphatasen in der dimeren Form beträgt zwischen 70000 und 240000 Daltons (11).

1.3. Diagnostische Bedeutung

Die Messung der Gesamtaktivität alkalischer Phosphatasen bei pH 9,8 unter Standardbedingungen (7) gehört zur Routinediagnostik in der Inneren Medizin. Erhöhungen der alkalischen Phosphatasen im Serum werden besonders häufig bei Leberzelluntergang, intra- und extrahepatischer Cholestase unterschiedlicher Ätiologie, vermehrter Osteoblastentätigkeit (physiologisch beim Knochenwachstum bis zum 14. Lebensjahr, Osteoporose, Osteomalacie, osteoplastische Knochenmetastasen, verschiedener maligner Tumoren, Morbus Paget), während physiologischer und pathologischer Schwangerschaften nach der 20. Woche, bei malignen Tumoren sowie nach fettreicher Mahlzeit im Serum gefunden.

Differentialdiagnostisch läßt sich die Erhöhung der Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatasen im Serum nur unter Zugrundelegung des klinischen Bildes, durch Bestimmung weiterer Enzyme (GOT, GPT, 5-Nukleotidase, Ornithin-Carbamyltransferase, gamma-Glutamyltransferase, Leucinaminopeptidase) oder durch Auftrennung der in multiplen molekularen Formen (Isoenzymen) vorkommenden alkalischen Phosphatasen weiter abklären.

Die Auftrennung der alkalischen Phosphatasen durch Säulenchromatographie (Anionenaustauschchromatographie) und durch isoelektrische Fokussierung ist wegen der Instabilität einiger Phosphatasen und der zeitlichen und methodischen Aufwendigkeit dieser Verfahren in der Routinediagnostik nicht durchführbar. Die Elektrophorese auf Papier, Zelluloseazetat und im Stärkegel ergibt widersprüchliche und häufig nicht reproduzierbare Ergebnisse. Die Elektrophorese in Polyacrylamidgel (Diskelektrophorese) erlaubt eine Unterscheidung zwischen Plazenta-, Knochen-, Leber-, "Cholestase-" und Dünndarm-Phosphatase, wobei sich Knochen- und Leber-Phosphatase unscharf gegeneinander abgrenzen lassen (22). Die biochemische und immunologische Zuordnung der elektrophoretisch im Serum nachweisbaren Banden mit enzymatischer alkalischer Phosphatase-Aktivität bei intrahepatischer und extrahepatischer Cholestase ist ungeklärt. In der Polyacrylamidelektrophorese

zeigt sich häufig eine Mikroheterogenität der einzelnen alkalischen Phosphatasen, es können sieben häufige und mindestens zwölf seltene genetische Varianten der Plazenta-Phosphatase unterschiedlicher elektrophoretischer Mobilität nachgewiesen werden (21). Die im Polyacrylamidgel im Serum nachgewiesenen und einem bestimmten Organ zugeordneten enzymatisch aktiven Banden zeigen häufig eine unterschiedliche elektrophoretische Mobilität bei Vergleich mit reinen alkalischen Phosphatasen derjenigen Organe, denen sie entstammen. Behandlung mit Neuraminidase zeigt zumindest bei der Dünndarm-Phosphatase eine veränderte elektrophoretische Mobilität (21).

Untersuchungen an der Laktatdehydrogenase (21), der Hexokinase (21), der Fruktose -1,6-Diphosphataldolase (24,26) und der Pyruvatkinase (21) haben gezeigt, daß genetisch determinierte Isoenzyme immunologisch differenziert werden können. Bei den alkalischen Phosphatasen reagiert Anti-Dünndarm-Phosphataseserum nur mit Dünndarm- und Plazenta-Phosphatase (22), nach Absorption mit reiner menschlicher alkalischer Plazenta-Phosphatase nur noch monospezifisch mit alkalischer Dünndarm-Phosphatase, jedoch nicht mehr mit anderen aus menschlichen Organen extrahierbaren alkalischen Phosphatasen.

Nach Bestimmung der Gesamtaktivität kann die Aktivität der alkalischen Dünndarm-Phosphatase

nach Präzipitation durch Anti-Dünndarm-phosphataseserum in biologischem Material isoliert gemessen werden. In der vorliegenden Arbeit wird die diagnostische Bedeutung der immunologisch bestimmten alkalischen Dünndarm-Phosphatasen im menschlichen Stuhl untersucht.

2. Material

2.1. Plazenta

Acht gesunde menschliche Plazenten wurden direkt post partum aufgearbeitet, um durch Entfernung des Blutes eine Verunreinigung durch Erythrocyten und Plasmaproteine auszuschließen. Es wurden makroskopisch unauffällige Plazenten verwendet, bei denen weder klinisch noch anamnestisch ein Hinweis auf eine Erkrankung bestand. Die Organe wurden freundlicherweise von Herrn Prof. Dr.R.Buchholz und Herrn Prof. Dr. A. Huch, Frauenklinik der Universität Marburg, zur Verfügung gestellt.

2.2. Dünndarm

Es wurden sieben gesunde menschliche Dünndärme von Autopsien (max. 12 Stunden post exitum) verwandt. Es wurde nur Jejunum und Ileum von Patienten verwertet, die makroskopisch, anamnestisch und klinisch keinen Hinweis auf eine Erkrankung aufwiesen. Die Organe wurden freundlicherweise von Herrn Prof. Dr.W. Hort sowie von Herrn Prof. Dr.P. Schmitz-Moormann, Pathologisches Institut der Universität Marburg, zur Verfügung gestellt.

2.3. Stuhl

Untersucht wurden Stuhlproben (1 bis 10g) von 43 gesunden, 9 zytostatisch und/oder radiotherapeutisch behandelten, 51 darmerkrankten und 25 dialysierten Patienten sowie 14 Personen mit anderen Erkrankungen. Insgesamt wurde die alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität in 309 Stuhlproben von 142 Personen bestimmt.

3. Methoden

3.1. Reagenzien und Substanzen

a) Heparinisierte 0,9%ige NaCl-Lösung:
5 ml Liquemin wurden mit 90 g NaCl auf 10 l Aqua dest. aufgefüllt.

b) 0,25 M Saccharose
855,75 g wurden auf 10 l Aqua dest. aufgefüllt.

c) n-Butanol (Merck, p.a.)

d) 0,1 M Tris (hydroxymethylaminomethan)-Puffer mit 0,02 $MgCl_2$, pH 7,5 (mit NaOH eingestellt) auf 10 l
1121,14 g Tris
40,66 g $MgCl_2$

e) Tris-Puffer + 5%ige Polyäthylenglukol
2 g Polyäthylenglukol auf 40 ml Tris-Puffer auffüllen.

f) Enzyme: Biochemica-Testkombination, alkalische Phosphatase, optimierte Standard-Methode (Boehringer, Mannheim). Methode nach BESSEY et. al. (4) modifiziert nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (7).

3.2. Isolierung der alkalischen Phosphatasen, Gewinnung der Antiseren und Bestimmung der Enzymaktivitäten

3.2.1. Isolierung der alkalischen Plazentaphosphatase

Gesunde menschliche Plazenta wurde direkt nach der Geburt durch die Nabelschnurgefäße mit einer heparinisierten 0,9%igen NaCl-Lösung bis zur weitgehenden Blutleere durchgespült. Dieses Plazentagewebe wurde mit 0,25 M Saccharose (Gewicht: Volumen= 1 : 5) homogenisiert und mit n-Butanol (Gewicht: Volumen = 1 : 2) extrahiert. Nach 60 Min. Inkubation bei 37° C wurde das Homogenat über Nacht bei 4° C aufbewahrt. Die Schicht, die das Enzym enthielt, wurde dekantiert und durch ein Mulltuch abfiltriert (22).

Die Azetonfällung (30 - 55%ige Sättigung, Sediment), der Hitzeschritt (10 Minuten, 65° C), die Amoniumsulfatpräzipitation (Sediment bei 45 - 62%iger Sättigung), die Anionenaustauscherchromatographie an DEAE-A-50 Sephadex (diskontinuierlich NaCl-Gradientensystem), die zweimalige Gelfiltration an Sephadex G-200 und die Kristallisation im Amoniumsulfat war von Herrn Prof.Dr. F.-G. LEHMANN nach den in Lit. (22) angegebenen Einzelheiten durchgeführt worden. Das kristallisierte Enzym zeigte in der Doppeldiffusion in der Immunelektrophorese mit Antiplazentaphosphataseserum (durch Immunisierung von Kaninchen

mit isoliertem Material) keine Verunreinigungen durch andere alkalische Phosphatasen. In der Polyacrylamidgelelektrophorese zeigte sich eine mikroheterogene enzymatisch aktive Bande. In der Immunelektrophorese und in der Doppeldiffusion konnte mit Plazenta-Phosphataseserum vom Kaninchen (Antigen: Plazenta vor Aufarbeitung) ein schwaches Präzipitat nach Färbung mit Coomossie-Brillant-Blau in der alpha-1-Region gefunden werden; dieses Präzipitat zeigte keine Phosphataseaktivität (24).

3.2.2. Isolierung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase

Dünndarm (Autopsiematerial) wurde höchstens 12 Stunden post exitum entnommen, das Mesenterium entfernt, längs aufgeschnitten und die Stuhlreste mit 0,9%iger NaCl-Lösung weitgehend entfernt. Die Jejunum- und Ileummukosa wurde mit einem Objektträger (26 x 76 mm) abgeschilfert (Abb. 17). Die weitere Aufarbeitung der alkalischen Dünndarm-Phosphatasen wurde nach der oben angegebenen Methode für alkalische Plazenta-Phosphatasen von Herrn Prof.Dr.F.-G. LEHMANN (22) mit folgenden Änderungen gegenüber der Isolierung der Plazenta-Phosphatasen durchgeführt: Die Azetonfällung erfolgte unfraktioniert bis 50% Sättigung erreicht wurde, der Hitzeschritt entfiel, und die Rechromatographie der Gelfiltration war nicht erforderlich. Die spezifische Aktivität des Kristallin-Enzyms betrug 436 U/mg. Das Enzym war in der Polyacrylamidgelelektrophorese, in der Doppeldiffusion und Immunelektrophorese gegen Anti-Dünn-

darm-Phosphataseserum ohne Verunreinigung (22).

3.2.3. Isolierung der alkalischen Leber-Phosphatase

Die alkalische Leber-Phosphatase wurde durch Herrn Prof. Dr. F.-G. LEHMANN nach Lit. (23) durch Butanolextraktion, Azetonpräzipitaion (30% - 50%ige Sättigung) Ammoniumsulfatpräzipitation (50% - 70%ige Sättigung) DEAE-A-50 Sephadex-Chromatographie, Sephadex G-200-Gelfiltration und Kristallisation im Ammoniumsulfat isoliert.

3.2.4. Herstellung der Antiseren

Bastardkaninchen wurden mit isolierter menschlicher alkalischer Dünndarm-Phosphatase wie folgt immunisiert (20): Alkalische Dünndarm-Phosphatase wurde mit kompletten Freund'schen Adjuvans (Behringwerke, Marburg) im Verhältnis 1:1 im Ultraschall (Sonifire, Fa. Branson) homogenisiert und zu gleichen Teilen in beiden Hinterpfoten intraplantar bzw. intramuskulär in den rechten Hinterschenkel injiziert; die Gesamtproteinmenge betrug 1 - 5 mg. 28 Tage danach wurden weitere 1 - 5 mg in kompletten Freund'schen Adjuvans in den Nacken subkutan an mindestens 5 Stellen injiziert. Nach weiteren 18 Tagen wurden 1 - 5 mg (dialysiert gegen Puffer ohne Adjuvans) in 0,1 M Trispuffer mit 0,02 $MgCl_2$, pH: 7,5 in

die Ohrvene injiziert, nachdem ein Drittel der Gesamtproteinmenge 4 Stunden zuvor intramuskulär zur Abbindung zirkulierender Antikörper injiziert worden war; die Gesamtproteinmenge betrug wiederum 1 - 5 mg. Sechs Tage danach wurde der Antikörpergehalt im Serum durch Nephelometrie (30) bestimmt und die Kaninchen innerhalb 48 Stunden durch dreimalige Entnahme von Blut aus der Ohrarterie sowie durch Entbluten aus der Arteria carotis in Nembutal-Narkose entblutet. Die Gesamtausbeute bei jedem Tier betrug 150 - 250 ml Serum. Die Absorption des Anti-Dünndarm-Phosphataseserums mit kristalliner reiner menschlicher Plazenta-Phosphatase erfolgte nach Gewinnung der gamma-Globulinfraktion durch zweimalige Präzipitation durch Amoniumsulfat (1. Präzipitation bis 40% Sättigung, 2. Präzipitation bis 35% Sättigung) durch Chromatographie über CNBr-aktivierte Sepharose-4-B in 0,1 M $NaHCO_3$ Puffer mit 0,5 M NaCl, pH-8,3, nach AXEN et.al. (1) durch Herrn Prof. Dr. F.-G. LEHMANN (22).

Anti-Leber-Phosphataseserum wurde nach dem selben Immunisierungsschema mit reiner menschlicher Leber-Phosphatase von Herrn Prof. Dr. F.-G. LEHMANN gewonnen, das Anti-Leber-Phosphataseserum wurde unabsorbiert verwendet.

3.2.5. Stuhlextraktion

Von den Stuhlproben wurden 1 - 2 g abgewogen und mit einem Ultraturrax-Homogenisator in 0.9%iger NaCl-Lösung (1 : 3, Gewicht: Vol.) homogenisiert. Dieses Homogenisat wurde für 10 Minuten bei 3000 U/min (ca. 4000 g) zentrifugiert und bei 4^{o} C gelagert.

3.2.6. Bestimmung der Gesamtphosphatase, anschließende Differenzierung in alkalische Leber- und Dünndarmphosphatase

Bestimmung der alkalischen Phosphatasen
Bestimmungsansatz:
Wellenlänge Hg 405 nm
Glasküvette: 1 cm Schichtdicke
Meßtemperatur: 25^{o}C
Messung gegen Luft
Reaktion:
p-Nitrophenylphosphat + H_2O $\xrightarrow{\text{alkalische Phosphatase}}$ p-Nitrophenol + Panorg

Bestimmung mit der optimierten Standardmethode nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (7).
Endkonzentration im Test:
1 M Diäthanolamin-Puffer, pH = 9,8;
0,5 mM $MgCl_2$, 10 mM Natrium-p-nitrophenylphosphat
(Testkombination, Fa. Boehringer, Mannheim).

Bestimmung der alkalischen Gesamtphosphatasen.
In 0,3 ml Tris-Puffer wurden 1 µl Stuhlextrakt pipettiert (Pipettierung mit einer Hamilton-Spritze). Dieses Gemisch wurde 1 Stunde bei 25° C im Wasserbad inkubiert. Nach Durchmischen der inkubierten Lösung wurden 0,2 ml entnommen und damit die Reaktion gestartet. Diese Reaktion wurde 5 Minuten lang am Eppendorf-Photometer verfolgt.
△E/Min. wurde zur Berechnung eingesetzt.
Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase
(alkalische Leber-Phosphatase);

Pipettierschema:

	Gesamt-phosphatase	Dünndarm-Phosphatase	Leber-Phosphatase
Stuhlextrakt	1 µl	1 µl	1 µl
Tris-Puffer + Polyäthylen-glykol	299 µl	298 µl	298 µl
Anti-DAP	---	1 µl	---
Anti-LAP	---	---	1 µl

In 0,3 ml Tris-Puffer wurden 1 µl Stuhlextrakt und 1 µl Anti-Dünndarm-Phosphatase-Gamma-Globulin (absorbiert mit alkalischer Plazentaphosphatase bzw. Anti-Leber-Phosphatase-Gamma-Globulin) pipettiert (Pipettierung erfolgt mit Hamilton-Spritze).

Dieses Gemisch wurde 1 Stunde bei 25 ^{0} C im Wasserbad inkubiert, danach 20 Min. bei 17 000 U/Min. (20 000 g), bei +4 ^{0} C zentrifugiert und der Überstand im Wasserbad auf 25 ^{0} C gebracht. Mit 0,2 ml dieser Lösung wurde die Reaktion in der Puffersubstrat-Lösung gestartet.

Berechnung der Enzymaktivität:

$$A = \frac{1000 \cdot V \cdot F}{\text{Min.} \varepsilon \cdot d \cdot v} \triangle E \text{ (mU/ml)}$$

Der Extinktionskoeffizient ε von p-Nitrophenol betrug bei 405 Nanometer 18,5 $cm^2/\mu Mol.$, die Schichtdicke (d) der Küvetten 1 cm.

v war das Volumen des eingesetzen Extraktes (0,001 ml), V war die Summe der im Pipettierschema angegebenen Volumina (3,2 ml). Die Reaktionszeit betrug 5 Min.
Der Verdünnungsfaktor (F) betrug 4,5.
Mischungsverhältnis:
Stuhl : NaCl = 1 : 3 (g : ml); von 0,3 ml Puffer-Stuhl-Extrakt-Gemisch wurden 0,2 ml in die Küvette überpipettiert.

$$F = \frac{3 \cdot 3}{2} = 4,5$$

Daraus folgte:
$A = 3 \times 155{,}7 \times \Delta E$ U/g Stuhl.

Bei diesen Enzymeinsätzen war der Substratverbrauch konstant, deshalb verlief die Reaktion linear.

Berechnung der Dünndarm-Phosphatase (Leber-Phosphatase).
Das Isoenzym wurde aus dem Gemisch durch Antikörper auspräzipitiert. Die Isoenzym-Aktivität wurde berechnet aus der Differenz der Aktivität vor und nach Präzipitation.

3.2.7. Statistik

3.2.7.1. Verteilungsanalyse

Die Leberenzyme wie die alkalische Dünndarm-Phosphatase haben eine logarithmisch normale Verteilung (siehe 5.1.1.). Aus diesem Grund muß bei der statistischen Bearbeitung eine logarithmische Transformation der Orginalwerte erfolgen.

Betrachtete man zwei Merkmale (LAP und DAP) zusammen und trug man jedes Individuum als Punkt in ein Koordinatensystem ein, so erhielt man bei Verwendung von Logarithmen und dem Vorliegen von Normalverteilungen elliptische Punktwolken. Die Streuung wurde durch eine

Ellipse (Streuungsellipse) wiedergegeben (Abb. 3 - 6). Diese Übereinstimmung der empirischen Verteilung mit der Gauß-Verteilung ging aus der Darstellung der Summenhäufigkeitskurve (Abb. 1, 2) hervor. Entsprach die empirische Summenhäufigkeitskurve der sigmoidförmigen Verteilungsfunktion der Gauß-Verteilung, so entsprach auch die Häufigkeitskurve der Glockenkurve der Gauß-Verteilung.

Diese Beispiele zeigten, daß Gauß-Verteilungen vorlagen. Im Zweidimensionalen war bei einer Gauß-Verteilung die Streuung elliptisch. Wäre sie es nicht, könnte man leicht auf "Ausreißer" schließen, die unter Umständen nicht erkannt würden, wenn nur jede Variable für sich allein statistisch behandelt würde.

3.2.7.2. Statistische Tests

3.2.7.2.1. Der Kolmogoroff-Smirnow-Test (KST)

Der KST diente zur Prüfung, ob eine empirisch gefundene Verteilung einer theoretischen Verteilung entspräche. Dabei wurde im einzelnen geprüft, ob die Daten nach logarithmischer Transformation einer Normalverteilung entsprächen. Es ließen sich bei der statistischen Überprüfung der erhaltenen DAP-Werte bei gesunden, darmerkrankten und dialysierten Personen (siehe Tab. VI, VIII, XI) keine signifikanten Abweichungen feststellen, die empirisch gefundene Verteilung stimmte somit mit theoretischen Normalver-

teilungen überein. Mit Hilfe des KST war auch kein Hinweis auf "Ausreißer" zu finden (27).

3.2.7.2.2. H-Test

Um zu prüfen, ob bei einzelnen Diagnosegruppen identische Verteilungen vorlagen, konnte eine einfache Varianz-Analyse durchgeführt werden, wenn normal verteilte Werte vorlägen. Es wurden hierzu die Logarithmen verwendet. Würde jedoch auf die logarithmische Transformation verzichtet, so könnte ein sogenanntes parameter-freies Verfahren eingesetzt werden, der H-Test, der dem Varianz-Analyse-Verfahren an Schärfe nicht nachsteht (27). In diesem Fall würde jedoch nicht auf Mittelwertunterschiede getestet, sondern auf Median-Wertunterschiede.

Beim parameter-freien Verfahren mit dem H-Test wurde die Rangordnung der Werte betrachtet, die bei den Logarithmen die gleiche war wie bei den Normalwerten. Der H-Test erlaubte jedoch nur die Schlußfolgerung, daß Unterschiede zwischen den einzelnen Diagnosegruppen bestanden. Er sagte aber nicht aus, zwischen welchen dieser Gruppen Unterschiede im einzelnen auftraten. Aus diesem Grunde mußte man einen paarweisen Vergleich durchführen, d. h. jede Diagnosegruppe mit jeder anderen vergleichen (Tab. XIII a), (27).

3.2.7.2.3. U-Test

Wo die Differenzen im einzelnen lagen, sollte durch paarweisen Vergleich der einzelnen Diagnosegruppen oder Stichproben mit Hilfe des U-Tests erfolgen (Tab. XIII b).

3.2.7.2.4. Streuungsellipse

Mit Hilfe der Standardabweichungen und der Korrelationskoeffizienten wurde die Streuungsellipse eingezeichnet (Abb. 3 - 6). Sie wurde so dimensioniert, daß 95 % der Werte innerhalb dieser Ellipse erwartet wurden. Sie entsprach damit dem Zwei-sigma-Bereich (18).

4. Ergebnisse

Untersuchungen zur Methodik

4.1. Präzipitation von alkalischer Dünndarm-Phosphatase durch ihre Antikörper

Bei der Untersuchung des idealen Stuhl : NaCl-Verhältnisses zur Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase wurde davon ausgegangen, daß 1 µl die geringste unter Routinebedingungen mit einer Hamilton-Spritze genau zu pipettierende Menge darstellte. Um einen konstanten Umrechnungsfaktor bei der Berechnung von Gesamtaktivität, DAP- und LAP-Aktivität durch konstante Endvolumina zu gewährleisten, wurde darauf verzichtet, für jedes Stuhl-Homogenisat die optimale Einsatzmenge zu erreichen. Stattdessen wurde bei einer standardisierten Einsatzmenge von 1 µl Extinktion und Aktivität bei einem Homogenisations-Verdünnungsfaktor von 1 : 3 bis zu 1 : 20 gemessen (Tab. I). Eine Verdünnung von 1: 3 wurde bei einer minütlichen Extinktion von 0,095 als optimal gefunden: Die Einsatzmenge war gut pipettierbar, die Extinktionsdifferenz über 5 Min. kontinuierlich gut ablesbar und die bei der Homogenisierung eingesetzte Verdünnung mit NaCl im Ultraturrax günstig.

Ein Vergleich der optimierten Standard-Methode nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (7) und der normalen Standard-Methode (Tab. II) zeigte, daß bei gleichem Einsatz die gemessene

Extinktion bei der optimierten Methode erwartungsgemäß deutlich höher lag. Da bei insgesamt höheren Extinktionsdifferenzen bei gleichem Einsatz die zu erwartende Streuung geringer war, wurde für die weiteren Untersuchungen die optimierte Standard-Methode verwandt.

Zahlreiche Serumenzyme, darunter auch einige multiple molekulare Formen der alkalischen Phosphatase, zeigten in hoher Verdünnung in NaCl-Lösung eine Instabilität mit schneller Denaturierung und Abfall der Aktivität vor der Messung.

Wegen der relativ langen Inkubationszeit bei der Präzipitation mit Anti-DAP-Gamma-Globulin bzw. Anti-LAP-Gamma-Globulin wurde die Stabilität der alkalischen Dünndarm- bzw. Leber-Phosphatase bei der Inkubation zur Präzipitation ohne und mit Humanalbumin-Zusatz überprüft: Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der gemessenen Extinktionsdifferenzen der Messungen ohne Humanalbumin gegenüber den Messungen mit Humanalbumin (Tab. III).

4.2. Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl

4.2.1. Intra-assay-Variation

Zur Überprüfung der Intra-assay-Variation wurde

bei 4 Personen Gesamtaktivität, LAP- und DAP-Aktivität im Stuhl in Doppelbestimmung mit getrennter Stuhl-Extraktion parallel am selben Tag bestimmt (Tab. IV). Die wesentliche Komponente, die die Variation bei diesem Vergleich hervorrief, war die Zufälligkeit der Probenentnahme aus dem Stuhl sowie die Stuhl-Homogenisierung.

Die zweite mögliche Variation entstand durch die Streuung der Methode. Die DAP-Aktivität zeigte eine Intra-assay-Variation zwischen 6,6 % und 16,0 %. Unter der Berücksichtigung der geringen Fallzahl und der Zufälligkeit der Probenentnahme aus einer größeren Stuhlportion konnte diese Intra-assay-Variation als noch befriedigend angesehen werden.

4.2.2. Inter-assay-Variation (Tag-zu-Tag-Variation)

Bei 7 Patienten wurde der Überstand des Stuhl-Homogenisates an 2 verschieden aufeinander folgenden Tagen in verschiedenen Testserien gemessen. Die Inter-assay-Variation betrug bis zu 20,0 % bei den einzelnen gemessenen Werten. Längeres Stehen bei 4 ^{0} C führte über mehrere Wochen nicht zu einem messbaren Aktivitätsverlust, in Tab. V ist als Beispiel eine Messung nach 7 Tagen mit der DAP-Aktivitäts-Differenz von 3,4 % aufgeführt.

5. Klinische Ergebnisse

Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Bestimmung in menschlichem Stuhl

5.1. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl von gesunden Personen

5.1.1. Einzelmessungen von alkalischer Dünndarm-Phosphatase-Aktivität

Bei 43 klinisch gesunden Personen betrug die DAP-Aktivität im Stuhl ($\bar{x}$) im Mittel 46162 $\pm$ 87112 (s) mU/g Stuhl (Tab. VI, VII). Der Normalbereich (zweifache Streuung) reichte somit bis zu 220386 mU/g Stuhl. Die Summenhäufigkeitskurve (Abb. 1) zeigte eine sigmoide Normalverteilungskurve im logarithmischen Maßstab nach Begradigung (Abb. 2). Dies entsprach einer Normalverteilungskurve. Der Mittelwert lag bei log. 4,005, die einfache Streuung (s) betrug log. 0,967. Der Mittelwert ($\bar{x}$) und die Standardabweichung (s) der Gesamtaktivität betrugen ($\bar{x} \pm s$) 61904 $\pm$ 130272 mU/g Stuhl, die Werte der LAP-Aktivität ($\bar{x} \pm s$) 12456 $\pm$ 19256 mU/g Stuhl.

5.1.2. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität in Wiederholungsbestimmungen

Bei 3 Patienten wurde im Stuhl die DAP-Aktivität nach 7 Tagen, 22 Tagen bzw. 6 Monaten bestimmt: Alle Patienten zeigten bei der zweiten Bestimmung DAP-Werte im Bereich der Aktivität der ersten Bestimmung (Tab. XII).

5.2. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl von erkrankten Personen

5.2.1. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Bei 51 Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wurde die Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatasen sowie die LAP- und DAP-Aktivität im Stuhl bestimmt (Tab. VIII a -d). Die Gesamtaktivitäten ($\bar{x} \pm s$) betrugen 64322 ± 75201 mU/g Stuhl, die LAP-Aktivität ($\bar{x} \pm s$) 15378 ± 21234 mU/g Stuhl und die DAP-Aktivität ($\bar{x} \pm s$) 59131 ± 69670 mU/g Stuhl (Tab. VII).

Die Streuungsellipse für 45 Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Abb. 4) (alle Patienten mit Ausnahme von 5 Patienten mit einer nicht meßbaren LAP- und einem Patient mit einer nicht meßbaren DAP-Aktivität im Stuhl) zeigten bei Zugrundelegung einer 95%igen Streuung eine schmale längliche Form, die nahelegte, daß Patienten mit extremen DAP- und/oder LAP-Werten im Stuhl nicht beobachtet werden konnten. Die Überprüfung des Gesamtkollektivs der Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen im KST-Test ergab keinen Hinweis für "Ausreißer".

Ein Vergleich der 95%igen Streuungsellipse für chronisch entzündliche Darmerkrankungen

mit der 95 % Streuungsellipse von Normalpersonen (Abb. 3, 6) zeigte, daß sämtliche Werte dieser Patienten im oberen Bereich der Streuungsellipse für Normalpersonen lagen. Wie aus den Mittelwerten hervorging, war der durchschnittliche DAP-Aktivitätswert im Stuhl bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (als Gesamtkollektiv) geringfügig gegenüber den Normalpersonen erhöht (Tab. VII).

Die Signifikanzprüfung auf der Ebene von 95 % Wahrscheinlichkeit ergab im H-Test (Tab. XIII a), daß bei Messungen der Gesamtaktivität nicht identische Verteilungen vorlagen. Ebenso positiv verlief das Ergebnis bei der Überprüfung des DAP-Aktivitätskollektivs. Die Überprüfung des LAP-Aktivitätskollektivs verlief negativ. Bei den nachfolgenden Überprüfung der Einzelgruppen gegeneinander im U-Test ergab sich eine Signifikanz auf dem 95 % Niveau bei der Vergleichsgruppe Normalpersonen und Personen mit Colitis ulcerosa in Remission. Bei den übrigen Vergleichsgruppen verlief die Signifikanzprobe negativ (Tab. XIII b).

5.2.1.1. Colitis ulcerosa im Schub

Bei 7 Patienten mit akuter Colitis ulcerosa wurde die DAP-Aktivität im Stuhl während eines Schubs bestimmt. Ein Schub der Erkrankung wurde angenommen, wenn akute Entzündungszeichen wie Fieber, durchfällige

Stühle, Blutabgang im Stuhl, Bauchschmerzen und Gewichtsverlust vorlagen. Die Aktivitäten der DAP schwankten von 7000 bis 66000 mU/g Stuhl bei einem Mittelwert von 25329 U/g und einer einfachen Varianz von 26117 mU/g. Im U-Test wurde die Signifikanz auf einer Basis von 95 % Wahrscheinlichkeit gegenüber Normalpersonen verfehlt (Abb. 7, Tab. VII, Tab. VIII b und Tab. XIII b)

5.2.1.2. Colitis ulcerosa in Remission

Bei 22 Patienten wurde die DAP-Aktivität bei Colitis ulcerosa in der Remission bzw. im inaktiven Stadium bestimmt. Eine Remission wurde angenommen, wenn die akuten Entzündungszeichen (Blutung, Fieber, Gewichtsverlust, Bauchschmerzen, dünnflüssige Stühle) zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht festgestellt werden konnten. Diese Patienten wurden in dieser Zeit medikamentös behandelt (Azulfidine, Steroide).

Die Aktivität der DAP schwankte zwischen 0 und 310000 mU/g Stuhl (Abb. 7 und Tab. VIII a) bei einem Mittelwert von 79812 mU/g Stuhl und einer einfachen Varianz von 91450 mU/g Stuhl (Tab. VII).

Im U-Test ergab sich eine Signifikanz auf der 5 % Irrtumswahrscheinlichkeits-Ebene gegenüber Normalpersonen, aber nicht gegenüber

Patienten mit Colitis ulcerosa im Schub (Tab. XIII b). Wegen der sehr großen Streuung ergab sich jedoch im U-Test bei Zugrundelegung einer Wahrscheinlichkeit von 95 % keine Signifikanz. Es wäre denkbar, daß eine Erhöhung der Zahl der Patienten im akuten Stadium der Colitis ulcerosa zu einer Signifikanz der Unterschiede zwischen aktiver und inaktiver Colitis ulcerosa führen würde.

Auffällig war die Differenz der Mittelwerte zwischen Colitis ulcerosa im Schub (25,3 U/g Stuhl) gegenüber den Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission (79,8 U/g Stuhl) (Tab. VII).

Die niedrigen Werte der DAP-Aktivität im Stuhl bei Patienten mit aktiver Colitis ulcerosa im Vergleich zu Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission oder Normalpersonen wäre möglicherweise auf die breiige Konsistenz der Stühle zurückzuführen; bei Patienten mit Colitis ulcerosa im Schub war auch die Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase (Mittelwert $\pm$ Varianz: 26,6 $\pm$ 26,4 U/g Stuhl), (Tab. VII) gegenüber den Werten bei Normalpersonen (61,9 $\pm$ 130,2 U/g Stuhl) und Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission (86,4 $\pm$ 99,1 U/g Stuhl) deutlich erniedrigt. Auch die von der DAP-Aktivität im Stuhl völlig unabhängige LAP-Aktivität zeigte bei Patienten mit Colitis ulcerosa im Schub (Mittelwert $\pm$ Varienz) mit

5,6 ± 5,2 U/g Stuhl gegenüber 12,5 ± 19,3 U/g Stuhl bei Normalpersonen bzw. 21,5 ± 29,1 U/g Stuhl bei Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission eine deutliche Reduktion der Aktivität (Tab. VII, VIII a und VIII b).

Die einfachste Erklärung für die Reduktion der Gesamtaktivität, der LAP- und DAP-Aktivität im Stuhl bei Colitis ulcerosa im Schub dürfte somit ein Verdünnungsfaktor durch eine größere Stuhlmenge, infolge breiiger Stühle bei akut entzündlicher Colitis ulcerosa sein. Der DAP/LAP-Quotient im Stuhl betrug bei Patienten mit aktiver Colitis ulcerosa im Mittel 4,55, bei Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission: 3,71 und bei Normalpersonen ebenfalls: 3,71 (Tab. IX).

Diese minimalen Unterschiede deuteten ebenfalls darauf hin, daß die Erniedrigung der Aktivität der DAP im Stuhl bei akuter Colitis ulcerosa eher durch die Stuhlkonsistenz als durch einen pathologischen Prozeß hervorgerufen worden war, der die Aktivität der alkalischen Phosphatase in Dünn- und Dickdarm durch Entzündung reduzierte.

5.2.1.3. Morbus Crohn

Bei 22 Patienten mit Morbus Crohn (Enteritis, Colitis oder Enterocolitis granulomatosa) wurde die DAP-Aktivität im Stuhl bestimmt (Abb. 7 und Tab. VIII c).

Der Mittelwert betrug 49,2 U/g bei einer Varianz von 45,5 U/g (Tab. VII). Der Mittelwert war mit den bei Normalpersonen beobachteten DAP-Aktivitäten im Stuhl annähernd identisch (Abb. 7, Tab. VII). Auch der DAP-/LAP-Quotient von 3,98 unterschied sich nicht signifikant von dem DAP-/LAP-Quotienten bei Normalpersonen von 3,71 (Tab. IX).

Es war nicht möglich, eine Korrelation zwischen der DAP-Aktivität im Stuhl und dem Aktivitäten-Index beim Morbus Crohn festzustellen, da die Berechnung des Aktivitäts-Index nicht zum Zeitpunkt der DAP-Bestimmung im Stuhl erfolgt war.

Die nähere Analyse der Tab. VIII c ergab, daß die Veränderungen der Gesamtaktivität im wesentlichen durch Veränderungen der DAP-Aktivität hervorgerufen wurde. Die LAP-Aktivität schwankte in einem relativ geringen Bereich. Die Berechnung des DAP-/LAP-Quotienten ergab, daß mit 2 Ausnahmen alle Patienten mit Quotienten unter 3 eine niedrige sowie sämtliche Patienten mit Quotienten über 6 eine sehr hohe DAP-

Aktivität im Stuhl aufwiesen. Dieses deutete darauf hin, daß die Schwankungen der LAP im Stuhl nicht mit den Veränderungen der DAP im Stuhl bei Patienten mit Morbus Crohn parallel gingen, so daß Veränderungen der Stuhlkonsistenz als entscheidender Faktor für die unterschiedlich hohen DAP-Werte im Stuhl ausgeschlossen werden konnten.

Bei 4 Patienten mit Morbus Crohn wurde die DAP-Aktivität im Stuhl nach 1 - 5 Tagen kontrolliert (Tab. X b): Bei allen Patienten war die DAP-Aktivität im Stuhl bei der Kontrolluntersuchung im selben Bereich wie bei der ersten Bestimmung.

5.2.1.4. Sprue

Bei 2 Patienten bei einheimische Sprue wurde die DAP-Aktivität im Stuhl bestimmt (Tab. VIII d). Sie betrug bei einem Patienten mit unbehandelter Sprue 0,3 U/g Stuhl, der DAP-/LAP-Quotient 0,5.

Ein weiterer Patient mit gluten-sensitiver einheimischer Sprue, die unter Behandlung mit glutenfreier Kost stand, zeigte einen DAP-Wert von 2,2 U/g Stuhl mit einem DAP-/LAP-Quotienten von 0,82. Auch der Vergleich des mittleren DAP-/LAP-Quotienten im Vergleich zu allen anderen Krankheitsbildern und Normalpersonen (Tab. IX) wies darauf hin, daß dieser abnorm niedrig im Vergleich zu allen anderen untersuchten Gruppen war. Dies machte deutlich, daß bei

einer vergleichsweisen nur gering erniedrigten DAP-Aktivität die DAP-Aktivität durch eine sehr starke Verminderung zu diesem niedrigen Quotienten geführt hatte. Wegen der geringen Zahl der untersuchten Patienten müßte jedoch vor endgültigen Schlußfolgerungen eine Untersuchung an einer größeren Anzahl von Patienten mit einheimischer Sprue diese Vermutung bestätigen.

3.2.2. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl bei Patienten mit Niereninsuffizienz

Wegen der relativ konstant bei chronischer Niereninsuffizienz beobachteten urämischen Enteritis wurden 25 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz untersucht. 18 Patienten standen in Behandlung durch regelmäßige Hämodialyse, 7 Patienten in intermittierender Behandlung durch Peritonealdialyse. Die DAP-Aktivität im Stuhl bei terminaler Niereninsuffizienz unter Dialysebehandlung betrug im Mittel 23,4 U/g Stuhl bei einer einfachen Varianz von 41,1 U/g Stuhl (Tab. VII). Diese Werte waren im H-Test und U-Test unter Zugrundelegung einer Wahrscheinlichkeit von 95 % nicht signifikant unterscheidbar von Normalpersonen (Tab. XIII a, Tab. XIII b).

3.2.2.1. Hämodialyse

18 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz unterschiedlicher Genese standen in regelmäßiger Hämodialysebehandlung (3 Dialysen/Woche).

Der Mittelwert und die einfache Varianz der DAP-Aktivität betrugen 15,4 U/g ± 22,7 U/g (Tab. VII), der DAP-/LAP-Quotient im Mittel 3,46 (Tab. IX).

Im U-Test war die DAP-Aktivität im Stuhl nicht signifikant abweichend von den bei Normalpersonen beobachteten Werten (95 % Wahrscheinlichkeit) (Tab. XIII b). Der DAP-/LAP-Quotient lag im gleichen Bereich wie bei Normalpersonen, bedingt durch eine sehr niedrige LAP-Aktivität im Stuhl. Die im Vergleich zu den anderen untersuchten Krankheitsgruppen bei den Einzelpersonen (Tab. XI a) und im Mittel (Tab. VII) niedrige DAP-Aktivität im Stuhl war somit möglicherweise durch Veränderungen der Stuhlkonsistenz und nicht durch eine Reduktion der Dünndarm-Phophatase-Aktivität im Stuhl bedingt.

5.2.2.2. Peritonealdialyse

Die bei 7 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und intermittierender Peritonealdialyse beobachteten DAP-Aktivitäten im Stuhl (Tab. XI b) lagen im Bereich der DAP-Aktivität von Normalpersonen. Ebenso waren der Mittelwert (45,7 U/g Stuhl), die Varianz (67,4 U/g Stuhl) und der DAP-/LAP-Quotient (4,44) in dem Bereich, der bei Normalpersonen ermittelten Werte (Tab. VII und Tab. IX).

Die bei Hämodialyse und Peritonealdialyse beobachteten DAP-Aktivitäten im Stuhl waren im U-Test nicht signifikant unterschiedlich. Die Abweichungen der DAP-Aktivität im Stuhl bei Hämo- und Peritonealdialyse (Abb. 8) sowie die Unterschiede zwischen LAP-Aktivität im Stuhl bei Hämo- und Peritonealdialyse (Tab. XI a und b) waren somit möglicherweise ausschließlich durch die Veränderungen der Stuhlmenge und/oder -konsistenz bedingt.

5.2.3. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl bei Mukosa-Schädigung durch Cytostatica und/oder Bestrahlung

5.2.3.1. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Verlauf bei zytostatisch behandelten Patienten

Normalpersonen und Patienten ohne Behandlung, die nicht an chronisch entzündlichen Dünn- oder Dickdarmerkrankungen erkrankt waren, zeigten bei Kontrolluntersuchungen im Stuhl DAP-Aktivitäten im selben Konzentrationsbereich (Tab. XII). Wiederholte Bestimmungen bei diesem Personenkreis ergaben konstant niedrige bzw. konstant hohe DAP-Aktivitäten im Stuhl. Systematische Kontrolluntersuchungen bei Normalpersonen über einen längeren Zeitraum mit einer größeren Anzahl waren nicht durchgeführt worden. Sämtliche Untersuchungen bei diesen Personen zeigten unterschiedlich hohe DAP-Aktivitäten im Stuhl innerhalb des Normbereiches mit einer auffallend geringen Schwankung pro Patient.

51 Bestimmungen bei 6 Personen unter Polychemotherapie (Abb. 13 - 15) zeigten eine deutliche Abhängigkeit der DAP von der Gabe der Zytostatika (Tab. XVII).

Bei einem 28jährigen Patienten mit einem Mesotheliom kam es unter der gleichen Kombinationsbehandlung mit Endoxan, Adriablastin, DTIC und Vincristin bei zwei zytostatischen Zyklen jeweils zu einem Anstieg der DAP-Aktivität im Stuhl von 28,6 U/g auf 101 U/g bzw. von 26,3 U/g auf 135 U/g mit einem darauffolgenden Abfall auf 33,8 U/g bzw. 10,6 U/g Stuhl (Abb. 13, Tab. XIV d). Unmittelbar vor dem zweiten zytostatischen Zyklus stieg die DAP- und die Gesamtphosphatase-Aktivität im Stuhl an, die nicht von einem gleichzeitigen geringen LAP-Aktivitätsanstieg begleitet wurde, wie er bei den übrigen zytostatischen Zyklen regelmäßig beobachtet wurde. Möglicherweise war dieser Anstieg auf eine entzündliche Schädigung des Darmes zurückzuführen, da der Patient zu diesem Zeitpunkt unter einem fieberhaften Infekt mit breiigen Stühlen bei zytostatisch bedingter Leukopenie erkrankt war.

Bei einem 69jährigen Patienten mit Bronchialcarcinom konnten bei 20 Kontrolluntersuchungen im Stuhl während zweier zytostatischer Zyklen ähnliche Beobachtungen gemacht werden (Tab. XIV e, Abb. 14) : Zunächst kam

es während des ersten Zyklus zu einem Anstieg der DAP-Aktivität im Stuhl von 4,7 U/g auf 19,3 U/g mit konsekutivem Abfall auf 0,9 U/g Stuhl. Vor dem zweiten zytostatischen Zyklus betrug die DAP-Aktivität im Stuhl zwischen 1,4 U/g und 3,7 U/g Stuhl, sie stieg nach zytostatischer Behandlung auf 56,4 U/g Stuhl an. Der DAP-/LAP-Quotient lag vor zytostatischer Behandlung zwischen 1,56 und 1,67, stieg unter dem ersten zytostatischen Zyklus auf 4,87 an, normalisierte sich anschließend auf Werte zwischen 0,46 bis 1,89, um während der erneuten zytostatischen Behandlung auf 2,35 anzusteigen. Ähnliche Veränderungen wurden während der fünf zytostatischen Zyklen bei den beiden oben beschriebenen Patienten beobachtet. Die zeitliche Abhängigkeit der Veränderungen des DAP-/LAP-Quotienten von Zytostatikagabe sind in Tab. XIV c, XIV d, XIV e und XV dargestellt (Abb. 16). Auffallend war der vor und nach zytostatischer Gabe im Vergleich zu Normalpersonen niedrige DAP-/LAP-Quotient; dies wies darauf hin, daß eine chronische Schädigung der Schleimhaut bereits vor zytostatischer Gabe vorlag. Mögliche Ursachen wären vorausgegangene zytostatische Zyklen, Atrophie, Folgen der Grunderkrankungen oder Schleimhautschädigungen aus anderer Ursache (interkurrente Infekte, medikamentöse Schleimhautschädigung durch Pharmaka, mangelnder trophischer Stimulus durch Nutritiva).

Die vergleichende Betrachtung der Aktivitäten im Stuhl mit dem DAP-/LAP-Quotienten im Stuhl wiesen darauf hin, daß es unter zytostatischer Gabe sowohl zu einem Anstieg der DAP-, als auch der LAP-Aktivität im Stuhl kam. Der Anstieg der DAP-Aktivität war jedoch relativ gesehen deutlich stärker ausgeprägt als der der LAP-Aktivität, was auch in der Berechnung der DAP-/LAP-Quotienten zum Ausdruck kam. Möglicherweise waren die absoluten Aktivitätsberechnungen stärker ausgeprägt als die von uns gemessenen Enzymaktivitäten, da bei der Berechnung der Aktivitäten auf g Stuhl die Veränderungen der Stuhlkonsistenz keine Berücksichtigung fand und unter beziehungsweise unmittelbar nach zytostatischer Behandlung breiige bzw. dünnflüssige Stühle, die einen Verdünnungseffekt hervorriefen, sehr häufig beobachtet wurden.

Ähnliche Veränderungen konnten bei 16 Bestimmungen bei 4 weiteren Patienten unter polychemotherapeutischer Behandlung beobachtet werden: Bei einem 71jährigen Patienten mit Bronchialcarcinom (Abb. 15 a, Tab. XIV i) unter Endoxan, Adriablastin, DTIC und Vincristin, bei einer 53jährigen Patientin mit Lymphoblastom (Abb. 15, Tab. XIV f) unter Vincristin und Endoxan, bei einem 40jährigen Patienten mit Lymphogranulomatose (Abb. 15 a, Tab. XIV g) unter Vincristin, Endoxan und Natulan sowie bei

einer 62jährigen Patientin bei einer akuten Leukämie unter Alexan und Rubidomycin wurden ebenfalls deutliche Veränderungen der DAP- und LAP-Aktivität im Stuhl beobachtet (Tab. XIV h, Abb. 15), die jedoch im Vergleich zu den 5 beobachteten Zyklen unter der Vierer-Kombination mit Endoxan, Adriablastin, DTIC und Vincristin deutlich geringer ausgeprägt waren (Tab. XIV d, Tab. XIV e, Tab. XIV i).

5.2.3.2. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Verlauf bei bestrahlten Patienten

Bei 2 Patienten, jeweils mit Bronchialcarcinom, wurden 33 Bestimmungen der alkalischen Phosphatase sowie der alkalischen Dünndarm- und Leber-Phosphatase im Stuhl durchgeführt (Abb. 10, 11, Tab. XIV a, Tab. XIV b).

Während der Bestrahlung des Thorax-Raumes sowie der regionären Lymphknoten (keine Bestrahlung des Bauchraumes mit direkter Strahlenschädigung des Dünndarms und/oder Dickdarms) wurden Aktivitätsschwankungen, z.T. über den 2-s-Normalbereich hinaus, beobachtet, die eine zeitliche Zuordnung zu den Bestrahlungsserien nicht erkennen ließen. Bei einem Patienten (Abb. 11) kam es vor Einleitung der Strahlenbehandlung ohne polychemotherapeutischer Behandlung zu einem Anstieg der DAP-Aktivität im Stuhl bis auf 180 U/g, während unter der Strahlenbehandlung die Gesamtaktivität, die DAP- und LAP-Aktivität im Stuhl bei 16 folgenden Kontrolluntersuchungen konstant im niedrigen Bereich verblieben. Demgegenüber zeigte eine in gleicher Weise behandelte Patientin mit Bronchialcarcinom (Abb. 10) deutliche Veränderungen der Gesamtaktivität und der DAP-Aktivität im Stuhl. Eine Zuordnung der Aktivitätsanstiege der Gesamt-Phosphatase und der Dünndarm-Phosphatase im Stuhl zu den einzelnen Bestrahlungsserien war nicht möglich. Es war naheliegend anzunehmen, daß für diese Schwankungen andere, von der Bestrahlung unabhängige Faktoren verantwortlich waren.

5.2.3.3. Alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Verlauf bei kombinierter polychemotherapeutischer und radiotherapeutischer Behandlung.

Bei einem 27jährigen Patienten mit Rabdomyosarkom (Abb. 12, Tab. XIV c), der mit Endoxan, Adriablastin, DTIC und Vincristin behandelt wurde, kam es unmittelbar nach intravenöser Gabe der Zytostatika zu einem steilen Anstieg der Dünndarm-Phosphatase-Aktivität (und damit auch der Gesamtaktivität) im Stuhl von 2,3 U/g auf 77 U/g bzw. von 8 U/g auf 52,3 U/g. Unmittelbar nach dem sehr steilen Anstieg der Dünndarm-Phosphatase-Aktivität fiel diese auf 1,4 U/g bzw. 9,9 U/g. Zwischen dem 1. und 2. bzw. dem 2. und 3. zytostatischen Zyklus schwankten die Dünndarm-Phosphatase-Aktivitäten im Stuhl in einem relativ engen Bereich (Abb. 12). Während des 3. zytostatischen Zyklus konnte die Dünndarm-Phosphatase-Aktivität erst 15 Tage nach Beginn bzw. 10 Tage nach Ende dieses Zyklus im Stuhl bestimmt werden. Unmittelbar zu Beginn der zytostatischen Behandlung in diesem Zyklus kam es ebenfalls zu einem Anstieg der Dünndarm-Phosphatase-Aktivität von 7,9 U/g auf 18,5 U/g, die erste Kontrolle nach Beendigung der Gabe der Zytostatika lag 15 Tage nach Beginn des Zyklus bei 29,6 U/g (Abb. 12).

In Kombination mit der polychemotherapeutischen Behandlung wurde fast während des gesamten Zeitraumes eine regelmäßige Strahlenbehandlung durchgeführt.

5.2.4. Übrige Patienten

Bei 14 weiteren Patienten wurden 34 Bestimmungen der alkalischen Gesamt-Phosphatase-, der DAP- und LAP-Aktivität im Stuhl durchgeführt.

Sämtliche Bestimmungen lagen im Normalbereich unter Berücksichtigung der doppelten Streuung (Tab. XVI).

Einzige Ausnahme war ein 38jähriger Patient mit akuter unspezifischer Proktokolitis mit einer DAP-Aktivität von 339 U/g. Auffällig waren die DAP- und LAP-Aktivitäten bei 2 Patienten, bei denen mehrere Kontrolluntersuchungen durchgeführt worden waren. Ein 66jähriger Patient mit einem obstruierenden malignen Tumor im Colon descendens (bei Durchführung der Stuhlbestimmung inkompletter Ileus) und multipler Lebermetastasierung mit extrahepatischem kompletten Verschlußikterus zeigte bei wiederholter Bestimmung im Stuhl nicht meßbare DAP- und bis auf eine Ausnahme ebenfalls nicht meßbare LAP-Werte bei extremer Erniedrigung der Gesamt-Phosphatase-Aktivität: Die Gesamt-Phosphatase schwankte zwischen nicht meßbar und 1,2 U/g, die DAP war bei 5maliger Kontrolle im Stuhl nicht meßbar und die LAP-Aktivität war bei 4 Untersuchungen nicht meßbar und einmal bei 0,6 U/g ebenfalls deutlich erniedrigt. Möglicherweise war die durch den obstruierenden Tumor im Bereich des

Colon descendens erfolgte Passage-
behinderung sowie der komplette extra-
hepatische Verschluß für die Erniedrigung
beider Enzyme im Stuhl verantwortlich.

Ein 71jähriger Patient mit Zustand nach
BII-Resektion des Magens, chronischer
Pankreatitis und Cholecysto-Ileostomie
zeigte im Vergleich zur DAP-Aktivität
erstaunlich hohe LAP-Werte im Stuhl,
die sich im DAP-/LAP-Quotient niederschlugen.
Dies war möglicherweise auf die direkte
Verbindung der Gallenwege mit dem
Ileum und der dadurch bedingten
Verkürzung der Passage zurückzuführen.
Die DAP-Aktivitäten waren im Vergleich
zu anderen Patienten sehr niedrig.

Ein 72jähriger Patient mit Bronchial-
carcinom zeigte bei 5 Kontroll-
bestimmungen innerhalb eines relativ
kurzen Zeitraumes (Tab. XIV) DAP-Aktivitäten
zwischen 3,0 U/g und 4,8 U/g (Abb. 9).
Unmittelbar präfinal war es im Spontanverlauf
(ohne Behandlung) zu einem deutlichen
Anstieg der DAP-Aktivität im Stuhl auf
35 U/g gekommen, möglicherweise bedingt
durch eine präfinale Durchblutungsstörung
des Darmes mit Autolyse und Abschilferung
des Bürstensaumes, Dieselbe Beobachtung
wurde bei einer 62jährigen Patientin mit
einer akuten Leukämie nach polychemotherapeutischer
Behandlung gemacht (Tab. XIV h). Präfinal zeigte

sich ebenfalls ein Anstieg der DAP-Aktivität im Stuhl von 45 U/g auf 133 U/g Stuhl.

6. Diskussion

Die Bestimmung der Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatasen als Summe der Einzelaktivitäten der multiplen molekularen Formen der alkalischen Phosphatasen im Serum ist Bestandteil der Routinediagnostik interner Erkrankungen. Zur Differenzierung der Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatasen im Serum finden verschiedene Methoden Anwendung: Elektrophorese im Agar-, Stärke- oder Polyacrylamid-Gel bzw. auf Zelluloseazetatmembranen, isoelektrische Fokussierung, Anionenaustauscherchromatographie, Hitzeinaktivierung, Harnstoffinaktivierung und nicht kompetitive Hemmung durch L-Phenylalanin, L-Tryptophan, L-Homoarginin, L-Leucin, Lävamisol und Imidazol (11,12,14, 16,25). Demgegenüber liegen nur wenige Studien zur Aktivitätsmessung der alkalischen Phosphatasen im Stuhl vor (2,3).

Die Kenntnisse über die biochemischen Eigenschaften der intestinalen alkalischen Phosphatasen sind im wesentlichen an gereinigter alkalischer Phosphatase aus Kälberdünndarm gewonnen worden. Dieses Enzym ist ein dimeres Molekül, das aus zwei offensichtlich sehr ähnlichen Untereinheiten besteht (24). Es ist ein Metalloenzym mit 4 Zinkatomen pro Molekül (24).

Die intestinale alkalische Phosphatase ist ein Bestandteil der Außenmembran der Mikrovilli (11,28). Sie wird im Bürstensaum des Duodenums, Jejunums und Ileums gefunden (11) und ist möglicherweise bei der Aufnahme von Phosphat aus dem Dünndarmlumen beteiligt (24). Die alkalische Phosphatase aus Dünndarm ist durch L-Phenylalanin zu 75 % hemmbar (12), während L-Homoarginin das Enzym nur zu 5 % hemmt (16,25). Die Hitzebeständigkeit der intestinalen alkalischen Phosphatase liegt ähnlich wie die des Isoenzyms aus der Leber zwischen der hitzestabilen Knochen- und der hitzelabilen Plazenta-Phosphatase (12).

Die elektrophoretische Mobilität im Stärkegel ist geringer als die der Leber-, Knochen- und Plazenta-Phosphatase (14). Die Behandlung mit Neuraminidase führt zu keiner Veränderung der elektrophoretischen Mobilität (14). Die bisher vorliegenden Untersuchungen zur immunologischen Verwandtschaft der intestinalen alkalischen Phosphatase zu anderen menschlichen Phosphatasen sind widersprüchlich: Eine Kreuzreaktion zwischen intestinaler alkalischer Phosphatase und Plazenta-Phosphatase ist von einigen Untersuchern gefunden worden (5,9,10,19,21,32), während gemeinsame antigene Determinanten von anderen Autoren (11,32) nicht bestätigt werden konnten. Die Beobachtung einer partiellen Kreuzreaktion zwischen alkalischer Plazenta- und Dünndarm-Phosphatase (21,22) ist inzwischen durch Nachuntersuchungen in anderen Laboratorien (8,26) bestätigt und anerkannt worden (15). Während die meisten Autoren eine Kreuzreaktion mit anderen alkalischen

Phosphatasen, z.B. aus Leber, Knochen, Niere und Leukocyten nicht feststellen können, werden vereinzelt Kreuzreaktionen mit Nieren- (5) bzw. mit Knochen-Phosphatase (29) beobachtet.

Die in dieser Arbeit verwendeten Antikörper von Kaninchen (21,22,24) zeigen eine partielle Kreuzreaktion mit menschlicher alkalischer Phosphatase aus Plazenta (21,22), jedoch keine Reaktion mit kristalliner alkalischer Phosphatase aus Leber (23) und Knochen (24) sowie angereicherter alkalischer Phosphatase aus der Niere (21,22). Nach Absorption mit kristalliner menschlicher alkalischer Phosphatase aus Plazenta (21,22) zeigen absorbierte Antiseren keine Reaktion mit reiner menschlicher Phosphatase aus Plazenta in Doppeldiffussion, Immunelektrophorese, in der turbidometrisch ermittelten Heidelberger-Kurve oder in der Laser-Nephelometrie (21,22,24).
Diese Antikörper zeigen darüber hinaus keine Reaktion mit alkalischer Phosphatase aus Escherichia coli (24).

Die wenigen bisher vorliegenden Untersuchungen (2,3) über das Vorkommen der alkalischen Phosphatase im Stuhl weisen darauf hin, daß die Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatasen im Stuhl sich aus 3 verschiedenen Quellen zusammensetzt: Die alkalische Dünndarm-Phosphatase, die alkalische Leber-Phosphatase und die alkalische Phosphatase der Bakterien.

Die in dieser Studie verwendeten monospezifischen Antikörper gegen menschliche alkalische Dünndarm-Phosphatase reagieren nicht mit kristalliner menschlicher alkalischer Leber-Phosphatase (23) und/oder alkalischer Phosphatase aus Escherichia coli (24). Es ist daher durch Immuntitration möglich, isoliert die Aktivität der alkalischen Dünndarm-Phosphatase zu bestimmen und über die Bildung eines Quotienten aus alkalischer Dünndarm- und Leber-Phosphatase, die durch unterschiedliche Stuhlmengen und/oder -konsistenz hervorgerufenen Schwankungen der Aktivität der alkalischen Dünndarm-Phosphatasen bei Berechnung pro Gramm Stuhl weitgehend auszuschalten. Voruntersuchungen (24) haben ergeben, daß die Immuntitration eine geeignete Methode zur Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl ist. In Gegenwart von Polyäthylenglykol werden durch monospezifische Antikörper gegen alkalische Dünndarm-Phosphatase über 99 % der Aktivität im aufsteigenden Schenkel der Heidelberger-Kurve auspräzipitiert (24).
Die Aktivität der alkalischen Dünndarm-Phosphatase errechnet sich als Differenz zwischen der Gesamtaktivität sowie der nach Präzipitation mit Antikörpern gegen alkalische Dünndarm-Phosphatase nach Zentrifugation im Überstand verbliebenen Restaktivität.

Im linearen Maßstab zeigt die alkalische Dünndarm-Phosphatase im Stuhl bei Normalpersonen eine breite Streuung. Die Umwandlung

der Aktivität der alkalischen Dünndarm-Phosphatase in den logarithmischen Maßstab zeigt eine logarithmische Normalverteilung. Bei Normalpersonen sowie bei unbehandelten Patienten mit verschiedenen Erkrankungen treten erhebliche Schwankungen der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl innerhalb des logarithmischen Normalbereiches auf, die, wie die Berechnung des DAP-/LAP-Quotienten zeigt, zum Teil auf eine unterschiedliche Stuhlkonsistenz zurückzuführen ist, jedoch in den meisten Fällen Spontanschwankungen im Normalbereich entsprechen dürften.

Bei Normalpersonen, bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen oder urämischen Enteritiden zeigen sich nur zwischen den beiden Vergleichsgruppen Normalpersonen und Personen mit Colitis ulcerosa in Remission signifikante Unterschiede der Aktivität der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl. Die sehr große Varianz der alkalischen Dünndarm-Phosphatase bei Normalpersonen sowie die relativ kleinen Kollektive dürften für die fehlende Signifikanz verantwortlich sein (Tab. XIII b).

Die Summenhäufigkeitskurven (Abb. 1,2) und die Streuungsellipsen (Abb. 4) von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zeigen gegenüber Normalpersonen (Abb. 3) deutlich höhere Aktivitäten der alkalischen Dünndarm-Phosphatase. Diese Unterschiede treten besonders hervor, wenn man die chronisch

entzündlichen Darmerkrankungen hinsichtlich ihrer Genese aufgeschlüsselt: So zeigen Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission ca. dreifach höhere Werte der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl gegenüber Patienten mit Colitis ulcerosa im akuten Stadium (Tab. VII). Ähnlich deutliche Veränderungen werden beim Vergleich der Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz unter Hämodialysebehandlung gegenüber Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz unter Peritonealdialysebehandlung beobachtet: Die Patienten unter intermittierender Peritonealdialysebehandlung haben ca. dreifach höhere Werte als die Patienten mit kontinuierlicher Hämodialysebehandlung (Tab. VII).

Die niedrigeren Aktivitäten der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl bei akuter Colitis ulcerosa gegenüber Colitis ulcerosa in Remission bzw. bei urämischer Enteritis bei kontinuierlicher Hämodialyse im Vergleich zu intermittierenden Peritonealdialyse sind jedoch mit Sicherheit zumindest nicht ausschließlich auf eine Verminderung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Bereich des Bürstensaumes zurückzuführen: Die Berechnung des DAP-/LAP-Quotienten (aktive Colitis ulcerosa: 4,55 gegenüber inaktive Colitis ulcerosa: 3,71 bzw. urämische Enteritis bei Hämodialyse: 3,46 gegenüber urämischer Enteritis bei Peritonealdialyse: 4,44 (Tab..IX) legt die Vermutung nahe, daß eher Veränderungen der Stuhlkonsistenz mit einem Verdünnungseffekt durch dünnflüssige bis breiige Stühle die Ursache für diese Erniedrigung

der alkalischen Dünndarm-Phosphatasen im Stuhl sind. Eine Bestätigung dieser Hypothese könnte durch Berechnung der Gesamtausscheidung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase/24 Stunden erfolgen.

Auffällig niedrig sind die bei 2 Patienten mit einheimischer Sprue gemessenen Aktivitäten der alkalischen Dünndarm-Phosphatase mit einem DAP-/LAP-Quotienten von 0,76 (Tab. IX); dies deutet darauf hin, daß bei diesen Patienten eine echte Reduktion der Ausscheidung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase erfolgt, die möglicherweise mit der Reduktion der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Bereich des Dünndarmepithels korreliert ist. Weitere Untersuchungen müssen klären, ob durch die Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl bei Patienten mit einheimischer Sprue ein Parameter zur Verfügung steht, der das Ausmaß der Epithelabflachung im Dünndarm anzeigt und evtl. als Kontrollparameter unter Behandlung mit glutenfreier Kost dienen kann. Bei Morbus Crohn und Colitis ulcerosa kann die Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl zur Diagnose und Therapiekontrolle nicht verwandt werden, da die Spontanschwankungen der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl bei Normalpersonen sehr groß sind und sich die Aktivitätsbereiche von Normalpersonen und von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen sehr häufig überschneiden.

Die Beobachtungen des präfinalen Anstiegs der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl sowie die sehr engen Korrelationen zwischen toxischer Schleimhautschädigung unter Polychemotherapie und Ausscheidung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl zeigen, daß eine sehr enge Beziehung zwischen Schleimhautschädigung im Bereich des Dünndarms und der Ausscheidung der alkalischen Phosphatase im Stuhl besteht. Die bei Normalpersonen beobachteten sehr starken Schwankungen der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität/Gramm Stuhl dürften einerseits auf eine wechselnde Stuhlkonsistenz zurückzuführen sein, wie durch die Bestimmung des DAP-/LAP-Quotienten wahrscheinlich gemacht werden kann. Andererseits ist es neben der Adaptationsfähigkeit der Dünndarmschleimhaut auf exogene Faktoren auch vorstellbar, daß nutritive Faktoren eine entscheidende Rolle bei der Abschilferung des Epithels im Bereich des Dünndarms spielen und somit die Ausscheidung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl beeinflussen. Neben der toxischen Schädigung der Dünndarmschleimhaut durch Nahrungsmittel wie Äthanol, Koffein und Gewürze, ist auch eine allergisch bedingte Abschilferung von Mukosazellen bei bestehender Prädisposition z.B. auf Bier, Erdbeeren, Crustaceae und andere Nahrungsmittel denkbar. Die Beeinflussung der Struktur und Funktion der Dünndarmmukosa durch Pharmaka wie Mitosehemmer, Proteinsynthesehemmer, Diuretika, Laxantien, Biguanide, wie Phenylhydantoin, Gallensäuren

und eine Reihe weiterer Pharmaka (6) ist bekannt. Eine Reduktion der Varianz der Werte der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl bei Normalpersonen ist erst zu erwarten, wenn alle möglichen toxisch-nutritiven Schädigungen der Dünndarmschleimhaut bzw. Schädigungen durch Einnahme von Pharmaka zum Zeitpunkt der Untersuchung sowie während einer längeren Kontrollperiode vor Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl ausgeschlossen sind. Bei "klinischen Normalpersonen" wird es nicht möglich sein, die oben erwähnten möglichen Faktoren, die die alkalische Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl beeinflussen, auszuschalten. Es ist nicht realistisch anzunehmen, daß man unter klinischen Bedingungen eine alterskorrigierte gesunde Population als Normalperson vorfindet, die vor Durchführung der Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität im Stuhl unter Standardbedingungen gelebt hat. Deshalb muß man von der großen Varianz ausgehen, die wir in unserem Kollektiv gefunden haben. Mit Ausnahme der Patienten mit einheimischer Sprue (deren Zahl jedoch zu gering für eine endgültige Schlußfolgerung ist) bleibt festzuhalten, daß die Bestimmung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase-Aktivität diagnostisch, prognostisch und als Überwachung der Therapie keine Hilfe darstellt. Sie erlaubt jedoch als einfache quantitative Methode eine Schädigung des Bürstensaums bzw. der Dünndarmmembran zuverlässig und schnell quantitativ zu beurteilen.

Darüber hinaus eignet sie sich - im Gegensatz zu bisherigen Untersuchungsverfahren wie Schleimhautbiopsie und Dünndarmperfusion - sehr gut für Serienmessungen in vivo unter dynamischen Bedingungen beim Menschen. Die Messung der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl ist daher eine neue, quantitative, nicht invasive Methode zur Messung der Schleimhautschädigung beim Menschen für diagnostische und therapeutische Fragestellungen.

7. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde eine Methode zur immunologischen Differenzierung der multiplen molekularen Formen der alkalischen Phosphatasen durch Präzipitation mit monospezifischen Antikörpern verwandt, um von 43 Normalpersonen, 9 zytostatisch und/oder bestrahlten, 51 darmerkrankten, 25 dialysierten Patienten und 14 Personen mit anderen Erkrankungen in Serien- und Einzelmessungen die Aktivität der alkalischen Gesamtphosphatase, alkalischen Dünndarm-Phosphatase und alkalischen Leber-Phosphatase im Stuhl zu bestimmen.

Die Aktivitätswerte der Patientengruppen wurden statistisch auf Normalverteilung und Signifikanz ausgewertet.

Die Immuntitration der alkalischen Dünndarm-Phosphatase im Stuhl ist eine gut reproduzierbare, nicht invasive Methode zur Feststellung toxischer Schleimhautschädigungen.

8. Abkürzungen und Enzyme

AP	=	alkalische Phosphatase (E.C. 3.1.3.1.)
D-AP	=	Dünndarm-alkalische Phosphatase
DEAE	=	Diäthylaminoäthyl
GOT	=	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	=	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
L-AP	=	Leber-alkalische Phosphatase
PAP	=	Plazenta-alkalische Phosphatase
Tris	=	Tris (hydroxymethyl)-aminomethan (Aminomethylidintrimethanol)

9.0. Tabellen

Tabelle I

Untersuchungen des idealen Stuhl : NaCl-Verhältnisses bei der Homogenisierung durch Doppelbestimmung

Probe	Stuhl:NaCl	Aktivität 1. Messung (mU/g)	Aktivität 2. Messung (mU/g)
1	1 : 3	2.804	2.960
2	1 : 5	1.620	1.713
3	1 : 10	903	903
4	1 : 20	560	529

Tabelle II

Untersuchungen der optimierten und normalen Standard-Methode

Probe	Stuhl:NaCl	optimierte Standard-Methode (mU/g)	normale Standard-Methode (mU/g)
1	1 : 3	2.804	1.277
2	1 : 5	1.620	810
3	1 : 10	903	476
4	1 : 20	560	280

Tabelle III

Untersuchung über die Einflußnahme von Human-Albumin auf die Enzymaktivität

Probe	ohne Hum.-Alb. (mU/g)	mit Hum.-Alb. (mU/g)
1	9.348	8.725
2	79.459	76.343
3	90.677	98.934

Tabelle IV

Name		intra-assay-Variation 1. Messung (mU/g)	Doppelbestimmung 2. Messung (mU/g)	prozent. Abweichung
Schu	AP	7322,7	7011,1	4,3 %
	L-AP	7011,1	5920,5	15,6 %
	D-AP	7011,1	6543,7	6,7 %
Hab	AP	28667,8	25863,3	9,8 %
	L-AP	12620,0	8569,2	32,1 %
	D-AP	27265,5	22903,0	16,0 %
Tra	AP	34120,9	35523,1	3,9 %
	L-AP	4985,7	11217,8	55,6 %
	D-AP	31160,6	33341,8	6,6 %
Ebe	AP	192260,9	182133,7	5,3 %
	L-AP	47519,9	56089,1	15,3 %
	D-AP	178238,6	165774,4	7,0 %

Tabelle V

Inter-assay Variation

Name	Messung 0. Tag (mU/g)	Messung 1. Tag (mU/g)	Messung 7. Tag (mU/g)	prozent. Abweichung
Schi	6076	6543		7,1 %
Pau	13554	11217		17,2 %
Rah	4674	4674		0,0 %
All	623	779		20,0 %
Wil	20721	23993		13,6 %
Spi	5453	5141		5,7 %
Ste	15580	16670		6,5 %
Foe AP	131809	-	163125	19,2 %
L-AP	0		0	0,0 %
D-AP	105322		109062	3,4 %

Tabelle VI

Gesunde Personen

n = 43

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	$\frac{DAP}{LAP}$
	Lau	934	799	799	1,0
	Ger	1.402	1.402	1.402	1,0
	Nau	1.402	934	1.090	1,17
	Por	2.025	2.025	2.025	1,0
	Gra	2.191	1.558	2.025	1,30
	Tei	2.648	1.402	2.337	1,67
	Gan	3.271	0	2.648	--
	Bru	3.895	2.492	3.427	1,38
	Sau, P	4.206	3.583	3.583	1,0
	Jan	4.206	3.271	3.116	0,95
	Sch, W	4.829	4.518	0	--
	Dam	4.985	3.583	4.050	1,13
	Kem	5.141	1.869	1.090	0,58
	Ine	6.387	5.297	4.674	0,88
	Ste	6.387	3.116	5.764	1,85
	Tra	6.543	4.518	6.543	1,45
	Sch, E	7.322	7.011	7.011	1,0
	Wil	7.478	4.829	2.025	0,42
	Ina	7.790	2.337	1.246	0,53
	Pet, F	7.945	6.076	4.829	0,79
	Sau, A	8.257	3.583	8.257	2,34
	Kie	9.659	7.322	9.503	1,30
	Tob	16.982	14.645	13.554	0,925
	Bar	17.449	9.503	15.736	1,66
	Rai	18.696	15.580	18.073	1,16
	Sch, D	19.008	1.402	16.982	12,11
	Sei	21.500	18.540	15.424	0,83

Fortsetzung Tabelle VI

Gesunde Personen

n = 43

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	DAP / LAP
	Sch, J	24.305	7.790	23.058	2,96
	Run	28.511	21.189	20.254	0,96
	Die	44.715	21.033	42.534	2,02
	Bac	46.429	28.823	31.160	1,08
	Urb	49.077	11.529	49.077	4,26
	Mut	55.777	15.112	45.650	3,02
	Sta	73.383	23.270	66.683	2,85
	Kis	101.271	16.982	97.376	5,73
	Rei	104.076	0	69.332	--
	Lau	109.841	11.996	85.224	7,10
	Bec	122.305	19.475	116.384	5,98
	Sch	150.661	59.672	119.656	2,01
	Pet, E	190.547	15.580	178.082	11,43
	Wer	294.311	0	219.682	--
	Wei	309.892	42.845	184.626	4,31
	Nee	754.242	109.062	482.989	4,43

Tabelle VII

AP-, L-AP-, D-AP-Aktitivät im Stuhl bei Erkrankungen des Dünn- und Dickdarmes

	AP		L-AP		D-AP	
mU/g	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
normal n = 43	61 904	130 272	12 456	19 256	46 162	87 112
Darmerkr. n = 51	64 322	75 201	15 378	21 234	59 131	69 670
Col ulc n = 29	71 954	90 575	17 670	26 215	66 661	83 555
Col ulc i. Sch n = 7	26 553	26 455	5 564	5 234	25 329	26 117
Col ulc i. Rem n = 22	86 399	99 161	21 522	29 053	79 812	91 450
M. Crohn n = 22	54 261	48 369	12 358	11 852	49 205	45 463
Dialyse n = 25	26 511	43 643	6 076	7 228	23 850	41 120
Hämodialyse n = 18	17 510	23 839	4 449	4 672	15 372	22 663
Peritoneal-D. n = 7	49 656	71 699	10 260	10 898	45 650	67 365

Tabelle VIII a

Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

n = 51

Patienten mit Colitis ulcerosa in Remission

n = 22

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	$\frac{DAP}{LAP}$
	Rob	3.116	2.181	0	--
	Sta	3.739	2.804	2.648	0,94
	Sch, A	6.699	2.960	5.920	2,00
	Rau	8.569	6.855	7.790	1,14
	Bal	14.645	2.337	12.775	5,47
	Kle	19.163	3.427	18.384	5,36
	Jae	19.319	5.920	14.645	2,47
	Die	21.033	0	20.377	--
	Gab	28.200	17.449	27.265	1,56
	Böc	28.823	18.540	26.642	1,44
	Tra	34.120	4.985	31.160	6,25
	Emm	50.791	9.036	48.922	5,41
	Sch, H	58.426	30.537	48.922	1,60
	Bec	64.190	7.945	62.009	7,80
	Hol	64.346	11.685	61.853	5,29
	Ost	72.915	32.874	68.709	2,09
	Was	155.179	5.141	148.324	28,85
	Bay	195.688	91.923	183.068	1,99
	Nol	233.704	0	221.396	--
	Lin	233.860	61.542	212.359	3,45
	Fei	244.992	61.853	224.979	3,64
	Sch, J	339.338	93.481	307.710	3,29

Tabelle VIII b

Patienten mit Colitis ulcerosa im Schub

n = 7

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	DAP / LAP
	Stö	7.322	2.181	7.166	3,29
	Web	9.815	7.945	8.413	1,06
	Hen	11.529	5.920	10.438	1,76
	Bau	11.996	5.141	10.750	2,09
	Gil	15.424	2.025	13.866	6,85
	Die	59.984	0	59.984	--
	Rau	69.799	15.736	66.683	4,24

Tabelle VIII c

Patienten mit Morbus Crohn

n = 22

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	DAP / LAP
	Kli	779	0	623	--
	Bön	6.076	3.427	2.337	0,68
	Har	6.232	0	5.453	--
	Pla	10.750	4.518	9.192	2,03
	Lor	11.529	6.699	10.906	1,63
	Sch, A	11.996	7.945	9.503	1,20
	Vie	12.620	7.011	7.322	1,04
	Kla	19.631	3.583	18.073	5,04
	Seh	22.591	9.815	20.410	2,09
	Mün	35.367	7.166	33.030	4,6
	Kun	36.302	30.381	29.446	0,97
	Gna	42.378	6.387	39.729	6,22
	Her	55.310	19.319	47.675	2,47
	Sch, C	72.915	16.515	66.683	4,04
	Het	80.705	29.758	73.383	2,46
	Sch, B	82.263	6.543	77.901	11,91
	Eli	86.470	27.732	79.615	2,87
	Sch, E	90.365	10.283	70.734	6,88
	Sen	93.949	8.101	87.561	10,81
	Hoo	109.996	14.022	105.167	7,50
	Stu	113.268	5.141	109.429	21,29
	Ebe	192.260	47.519	178.238	3,75

Tabelle VIII d

Patienten mit Sprue

n = 2

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	DAP / LAP
	Wol	1.090	623	311	0,5
	Frü	4.206	2.648	2.181	0,82

Tabelle IX

Mittlerer D-AP/L-AP - Quotient

	n	$\frac{DAP}{LAP}$ Quotient
Normalpersonen	43	3,71
Colitis ulcerosa (aktiv)	7	4,55
Colitis ulcerosa (inaktiv)	22	3,71
Morbus Crohn	22	3,98
Urämische Enteritis bei		
Hämodialyse	18	3,46
Peritonealdialyse	7	4,44
Sprue	2	0,76

Tabelle X a

Verlaufsmessung bei einem Patienten mit Colitis ulcerosa im Schub

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	DAP / LAP
Gil	16.1.76	13.866	2.025	6,85
	22.1.76	94.728	0	--
	23.1.76	72.292	0	--
	24.1.76	106.725	0	--

Tabelle X b

Kontrolluntersuchungen bei 4 Patienten mit Morbus Crohn

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	$\frac{DAP}{LAP}$
Har	16.2.76	5.453	0	--
	17.2.76	5.505	0	--
Kli	20.2.76	623	0	--
	21.2.76	311	0	--
Schl	13.8.75	70.734	10.282	6,88
	16.2.76	69.643	33.186	2,10
Schm	15.1.76	9.503	7.945	1,20
	20.1.76	15.268	14.957	1,02

Tabelle XI a

Dialyse-Patienten

n = 25

Hämodialyse-Patienten

n = 18

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	DAP / LAP
	Tri	623	0	311	--
	Jos	1.246	623	467	0,75
	Wei	2.648	1.558	2.337	1,50
	Spi	2.804	2.337	1.713	0,73
	Nau	3.271	2.181	2.804	1,29
	Joh	3.427	2.648	2.648	1,0
	Eng	4.829	2.337	4.206	1,80
	Sac	5.764	3.895	4.050	1,04
	Hof	9.036	8.101	8.257	1,02
	Str	12.152	3.739	12.152	3,25
	Ger	12.620	0	12.152	--
	Sch	15.112	8.101	8.413	1,04
	Lim	17.449	6.699	14.801	2,21
	Are	19.163	16.515	10.127	0,61
	Fra	21.812	8.257	20.877	2,53
	Hap	31.316	623	30.537	49,02
	Bel	55.933	0	49.389	--
	Mül	95.974	12.464	91.456	7,34

Tabelle XI b

Peritoneal-dialysierte Patienten

n = 7

mU/g	Name	AP	L-AP	D-AP	DAP / LAP
	Sch	1.090	1.090	1.090	1,0
	Say	3.737	2.025	3.116	1,54
	Lim	20.410	1.246	17.294	13,88
	Olb	26.174	20.566	21.500	1,05
	Hab	28.677	12.620	27.265	2,16
	Sei	61.687	28.823	56.712	1,97
	Gör	205.815	5.453	192.572	35,31

Tabelle XII

Wiederholungsmessung bei gesunden Personen

Name	Datum	D-AP (mU/g)
Nee	9.10.75	482.989
	31.10.75	345.103
Rai	20.10.75	18.073
	27.10.75	6.387
Wei	26.08.75	184.626
	03.03.76	179.485

Tabelle XIII a

H-Test Signifikanzprobe innerhalb des untersuchten Kollektivs

	errechneter Wert	kritischer Wert	Signifikanz
Gesamt-AP	14,152	11,07	+
LAP	10,64	11,07	--
DAP	14,01	11,07	+

Tabelle XIII b

U-Test

Vergleichsgruppe	gesuchte Prüfgröße U	Approximation Grenzwert $\hat{z}$ = 1,96	Signifikenz auf 95 % Niveau alpha = 0,05
normal - Col. ulc. i. S. n = 43 n = 7	127	$\hat{z}$ = 0,66	--
normal - Col. ulc. i. Rem. n = 43 n = 22	299,5	$\hat{z}$ = 2,40	+
normal - M. Crohn n = 43 n = 22	335	$\hat{z}$ = 1,91	--
normal - Hämodialyse n = 43 n = 18	345	$\hat{z}$ = 0,66	--
normal - Peritonealdialyse n = 43 n = 7	129,5	$\hat{z}$ = 0,59	--
Hämodialyse - Peritonealdialyse n = 18 n = 7	39	$\hat{z}$ = 1,45	--
Col. ulc. i.S. - Col. ulc. i. Rem. n = 7 n = 22	48	$\hat{z}$ = 1,47	--

Tabelle XIV a

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	DAP / LAP
Wag	30.08.75	262.216	111.399	2,35
	31.08.75	227.316	2.025	2,25
	01.09.75	48.766	3.427	14,23
	03.09.75	70.111	2.492	28,13
	06.09.75	54.375	16.203	3,36
	08.09.75	69.020	0	--
	09.09.75	122.305	25.551	4,79
	11.09.75	40.820	18.228	2,24
	15.09.75	164.372	11.685	14,07
	19.09.75	60.295	9.815	6,14
	20.09.75	59.205	0	--
	22.09.75	61.230	9.659	6,34
	24.09.75	23.370	10.594	2,21
	01.10.75	131.653	0	--
	02.10.75	59.984	6.855	8,75

Krankheit: Bronchial-Ca.

Behandlung:

Bestrahlung: vom 29.8.75 bis 2.10.75
25 Bestrahlungen á 156 r

Tabelle XIV b

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	$\frac{DAP}{LAP}$
Rie	3.8.76	95.507	8.101	11,79
	7.8.76	178.082	53.752	3,31
	8.8.76	28.356	25.707	1,10
	11.8.76	3.116	1.090	2,86
	13.8.76	8.880	5.297	1,68
	19.8.76	2.492	779	3,20
	22.8.76	7.322	5.764	1,27
	25.8.76	64.035	25.551	2,51
	28.8.76	5.764	2.181	2,64
	2.9.76	467	467	1,00
	3.9.76	13.554	7.790	1,74
	4.9.76	5.920	3.271	1,81
	5.9.76	8.101	4.050	2,00
	10.9.76	14.801	9.971	1,40
	11.9.76	4.985	3.583	1,39
	15.9.76	7.166	4.518	1,59
	17.9.76	17.138	3.427	5,00
	18.9.76	3.271	2.648	1,24

Krankheit: Bronchial-Ca.

Behandlung:

Bestrahlung vom 13.8.1975 bis 18.9.1975
27 Bestrahlungen à 147 r

Tabelle XIV c

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	DAP/LAP
Tru	13.8.76	2.337	1.558	1,50
	17.8.76	76.966	19.163	4,02
	18.8.76	1.402	779	1,80
	19.8.76	35.678	27.888	1,20
	20.8.76	5.453	3.427	1,59
	21.8.76	4.206	3.739	1,12
	22.8.76	3.895	2.492	1,56
	23.8.76	4.829	4.829	1,00
	24.8.76	3.583	3.427	1,05
	25.8.76	6.387	6.232	1,02
	26.8.76	10.906	7.322	1,49
	27.8.76	2.648	1.246	2,13
	28.8.76	9.192	7.945	1,16
	29.8.76	18.073	13.073	1,23
	30.8.76	12.152	10.438	1,16
	1.9.76	14.333	13.399	1,07
	7.9.76	7.945	5.608	1,42
	8.9.76	29.446	12.931	2,28
	9.9.76	13.710	10.282	1,33
	10.9.76	24.772	12.152	2,04
	11.9.76	52.349	14.333	3,65
	12.9.76	26.486	13.710	1,93
	16.9.76	9.971	6.543	1,52
	17.9.76	23.526	10.906	2,16
	19.9.76	4.518	2.648	1,71
	20.9.76	15.268	11.685	1,31
	22.9.76	7.945	4.985	1,59
	24.9.76	18.540	11.841	1,57
	7.10.76	29.602	7.945	3,73
	8.10.76	15.424	11.841	1,30
	9.10.76	22.747	4.829	4,71

Tabelle XIV c Blatt 2

Krankheit: Rhabdomyosarkom

Behandlung:

	13.8.75	14.8.75	15.8.75	16.8.75	17.8.75
Vincristin	2 mg				
Endoxan		1 g			
Adriablastin		100 mg			
DTIC	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg

	1.9.75	2.9.75	3.9.75	4.9.75	5.9.75
Vincristin	2 mg				
Endoxan		500 mg			
Adriablastin		50 mg			
DTIC	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg

	22.9.75	23.9.75	24.9.75	25.9.75
Endoxan		500 mg		
Adriablastin		50 mg		
DTIC	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg

Bestrahlung: vom 18.8.1975 bis 25.9.1975
29 Bestrahlungen à 210 r

Tabelle XIV d

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	$\frac{DAP}{LAP}$
Knö	5.1.76	28.667	15.891	1,80
	6.1.76	54.531	20.254	2,69
	9.1.76	100.960	31.160	3,24
	10.1.76	84.445	34.588	2,44
	12.1.76	33.809	16.047	2,11
	13.1.76	63.411	9.192	6,90
	14.1.76	38.950	19.942	1,95
	21.1.76	26.330	21.812	1,21
	27.1.76	132.744	16.670	7,96
	31.1.76	108.906	62.944	1,74
	1.2.76	134.925	52.194	2,59
	4.2.76	22.903	12.308	1,86
	5.2.76	10.594	7.166	1,48
	6.2.76	20.254	16.670	1,21
	8.2.76	30.537	0	--

Tabelle XIV d Blatt 2

Krankheit: Mesotheliom

Behandlung:

	5.1.76	6.1.76	7.1.76	8.1.76	9.1.76
Vincristin	2 mg				
Endoxan		1 g			
Adriablastin		100 mg			
DTIC	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg

	30.1.76	31.1.76	1.2.76	2.2.76	3.2.76
Vincristin	2 g				
Endoxan		500 mg			
Adriablastin		100 mg			
DTIC	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg

Tabelle XIV e

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP(mU/g)	L-AP(mU/g)	DAP / LAP
Grä	5.1.76	4.674	2.804	1,67
	6.1.76	6.543	4.206	1,56
	7.1.76	19.319	7.634	2.53
	9.1.76	5.608	2.960	1,89
	10.1.76	17.449	3.583	4,87
	11.1.76	10.906	5.764	1,89
	12.1.76	16.203	11.373	1,42
	13.1.76	9.815	7.478	1,31
	14.1.76	9.192	7.634	1,26
	15.1.76	9.348	8.569	1,09
	16.1.76	934	934	1,00
	19.1.76	6.543	4.674	1,40
	21.1.76	1.402	2.181	0,64
	22.1.76	1.713	2.337	0,73
	23.1.76	3.739	1.402	2,67
	3.2.76	15.424	11.841	1,30
	7.2.76	12.464	12.464	1,00
	8.2.76	15.424	14.801	1,04
	9.2.76	3.583	2.804	1,28
	11.2.76	56.400	23.993	2,35

Tabelle XIV e Blatt 2

Krankheit: Bronchial-Ca

Behandlung:

	6.1.76	7.1.76	8.1.76	9.1.76	10.1.76
Vincristin	2 mg				
Endoxan		1 g			
Adriablastin		100 mg			
DTIC	525 mg	525 mg	525 mg	525 mg	525 mg

	2.2.76	3.2.76	4.2.76	5.2.76	6.2.76
Vincristin	2 mg				
Endoxan		1 g			
Adriablastin		100 mg			
DTIC	525 mg	525 mg	525 mg	400 mg	400 mg

Tabelle XIV f

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP(mU/g)	L-AP(mU/g)	DAP / LAP
Kre	9.10.75	7.011	2.648	2,65
	14.10.75	5.764	4.985	1,16

Krankheit: Lymphoblastom

Behandlung:

	10.10.75	11.10.75
Vincristin	2x1mg	
Endoxan		1,5 g

Tabelle XIV g

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	$\frac{DAP}{LAP}$
Iff.	5.1.76	5.608	2.960	1,89
	9.1.76	9.192	11.841	0,78
	10.1.76	11.685	10.750	1,09
	15.1.76	11.217	13.087	0,86

Krankheit: M. Hodgkin

Behandlung:

	7.1.76	8.1.76	9.1.76	10.1.76
Vincristin	2,5 mg			
Endoxan	1,1 g			
Natulan	150 mg	150 mg	150 mg	150 mg

	11.1.76	12.1.76	13.1.76	14.1.76
Vincristin				2,5 mg
Endoxan				1,1 mg
Natulan	150 mg	150 mg	150 mg	150 mg

Tabelle XIV h

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	$\frac{DAP}{LAP}$
Fäl	25.7.75	263.514	208.983	1,26
	26.7.75	258.425	166.709	1,55
	27.7.75	120.695	75.097	1,61
	28.7.75	106.361	30.952	3,44
	31.7.75	105.322	0	--
	1.8.75	45.182	11.996	3,77
	6.8.75	133.212	10.906	12,21

Krankheit: akute Leukämie

Behandlung:

	23.7.	24.7.	25.7.	26.7.	27.7.	28.7.	29.7.
Ondena	60 mg	60 mg	60 mg	--	--	--	--
Alexan	2x40 mg	3x40 mg	3x40 mg	3x40 mg	3x40 mg	3x40 mg	3x40 mg

Tabelle XIV 1

Verlaufsmessung und Behandlung

Name	Datum	D-AP (mU/g)	L-AP (mU/g)	DAP/LAP
Pre	27.10.75	136.016	0	--
	3.11.75	241.494	74.785	3,23
	4.11.75	370.811	60.763	6,10

Krankheit: Bronchial-Ca

Behandlung:

	28.10.76	29.10.75	30.10.75	31.10.75	1.11.75
Vincristin	2 mg				
Endoxan		900 mg			
Adriablastin		90 mg			
DTIC	450 mg	450 mg	450 mg	450 mg	450 mg

Tabelle XV

DAP-/LAP-Quotient unter Polychemotherapie

Patient		Zyklen	vor zytostatischer	während Behandlung	nach
Tr., R	27 J.	1	1,50	4,02	1,00
		2	1,42	3,65	1,52
		3	1,57	3,73	---
Kn., W	28 J.	1	1,80	3,24	1,95
		2	1,21	2,59	1,48
Gr., K	69 J.	1	1,67	4,87	1,00
		2	0,73	2,35	---

Tabelle XVI

Übrige Patienten n = 14

Einzelmessungen

mU/g

Name	Diagnose	AP	L-AP	D-AP	$\frac{DAP}{LAP}$
Bie	chronische Niereninsuff.	1.246	1.246	0	--
Lin	akute unspezifische Proktokolitis	376.108	47.987	339.027	7,06
Mat	gastrointestinale Blutung unter Marcumar	20.722	3.272	19.943	6,10
Rau	post alkoholische Leberzirrhose	42.534	12.620	42.223	3,35
Scha	Ulcus ventriculi	11.218	5.921	9.971	1,68
Wei	Zustand nach Palliativ OP bei metastasierendem Magen-Ca	21.812	3.428	21.812	6,36
Wey	Virus-Gastroenteritis	9.192	9.192	9.192	1
Wie	parathyreoprive Tetanie (Resorptionsstörung)	1.714	1.246	1.091	0,88

Tabelle XVI

Übrige Patienten n = 14

Verlaufsmessungen

mU/g

Name	Diagnose	Datum	AP	L-AP	D-AP	D-AP / L-AP
Gau	Colon-Ca,	19.01.76	935	0	0	--
	Lebermetastasen	19.01.76	0	0	0	--
	extrahepatischer	20.01.76	935	0	0	--
	Verschlußikterus	20.01.76	1.246	623	0	--
		21.01.76	312	0	0	--
Gro	BII-Resektion,	22.01.76	935	0	0	--
	chron. Pankreatitis	29.01.76	779	779	467	0,60
	Cholecysto-Ileostomie	30.01.76	1.714	0	1.714	--
		31.01.76	2.025	2.025	1.402	0,69
		01.02.76	2.649	2.493	1.714	0,69
		02.02.76	3.428	3.272	1.558	0,48
		03.02.76	156	0	156	--
Leg	Salmonellose	18.10.75	4.518	4.051	4.051	1
	Plasmocytom	20.10.75	56.868	0	53.596	--

Fortsetzung von Tabelle XVI

Übrige Patienten n = 14

Verlaufsmessungen

mU/g

Name	Diagnose	Datum	AP	L-AP	D-AP	$\frac{\text{D-AP}}{\text{L-AP}}$
Möl	Bronchial-Ca	26.08.76	3.583	2.648	2.960	1,12
		27.08.76	3.739	2.492	3.271	1,31
		27.08.76	3.739	2.960	3.271	1,11
		28.08.76	4.518	3.271	3.271	1,00
		28.08.76	6.544	5.141	4.829	0,94
		29.08.76	17.294	11.062	13.866	1,25
		30.08.76	16.047	8.569	12.775	1,49
		31.08.76	38.639	30.693	34.432	1,12
Möl	Zustand nach Cholezystektomie und Strumektomie Digitalisintoxikation	19.01.76	83.822	935	79.615	85,15
		22.01.76	147.234	0	138.665	--
Wie	irritables Colon	31.08.75	12.776	8.258	11.685	1,41
		04.09.75	5.921	3.272	5.453	1,67

Tabelle XVII

Arzneispezialität	-	Zusammensetzung
Adriablastin	-	Doxorubicin-HCL
Alexan	-	Cytosin-Arabinosid
DTIC	-	Dacarbazin
Endoxan	-	Cyclophosphamid
Natulan	-	Procarbacin-HCL
Ondena	-	Daunorobicin-HCL
Vincristin	-	Vincristinsulfat

10. Abbildungen

Abb. 1: Summenhäufigkeitskurve

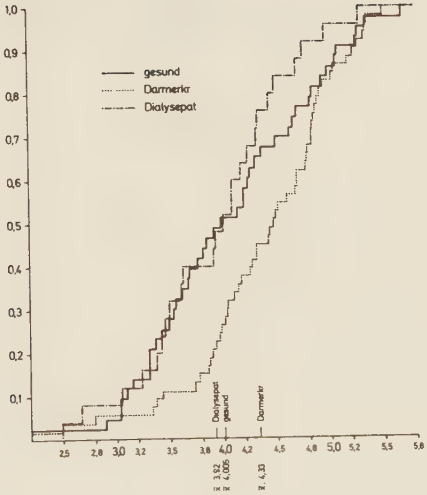


Abb. 2: Summenhäufigkeitskurve nach Begradigung

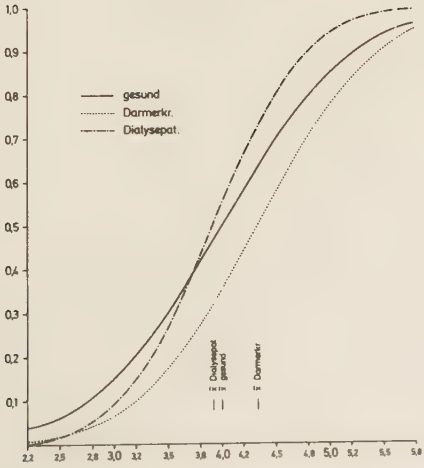


Abb. 3: Streuungsellipse

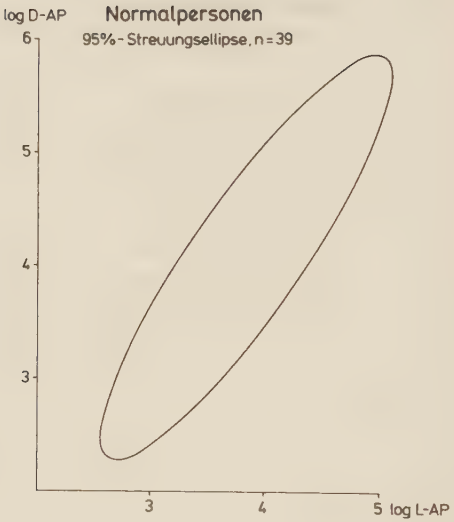


Abb. 4: Streuungsellipse

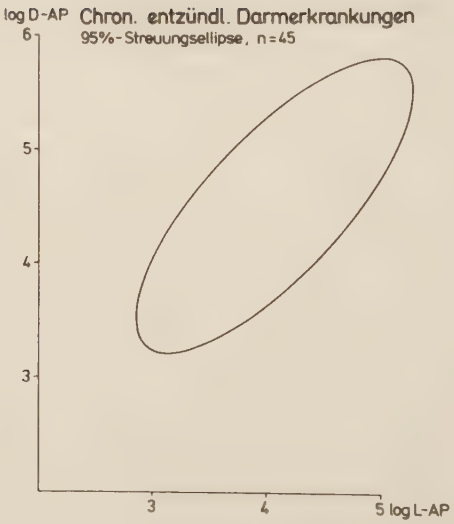


Abb. 5: Streuungsellipse

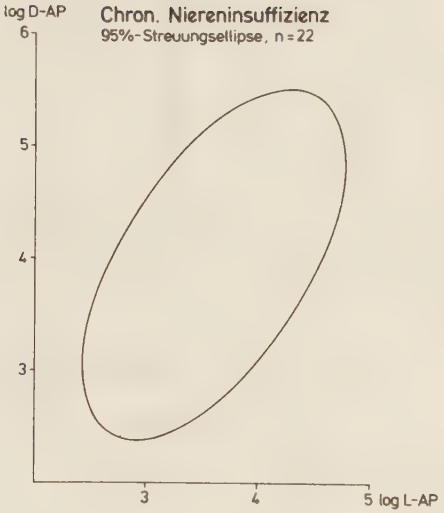
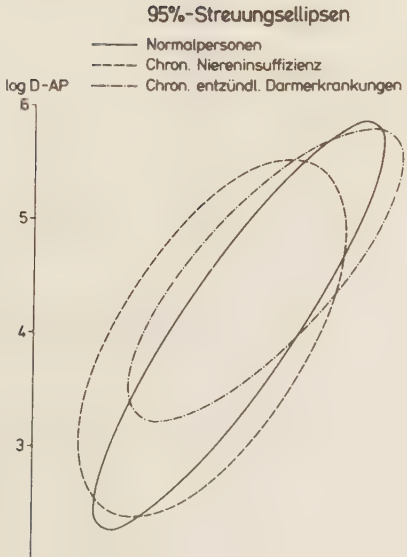


Abb. 6: Streuungsellipse



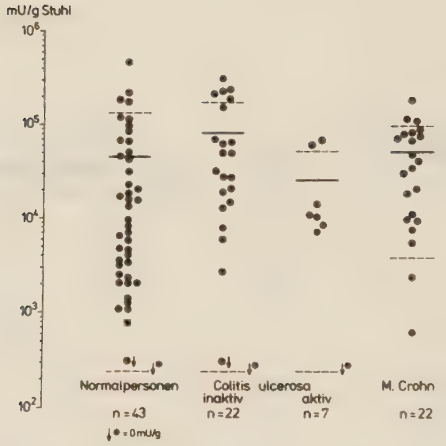


Abb. 7: DAP-Aktivität im Stuhl

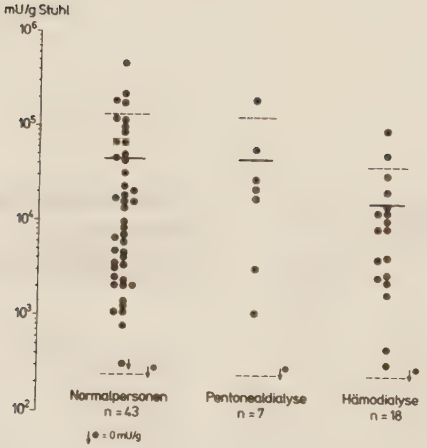


Abb. 8: DAP-Aktivität im Stuhl

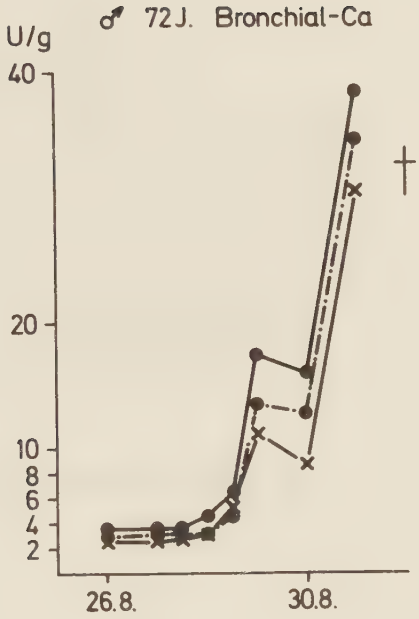


Abb. 9: Verlaufskontrolle bei einem unbehandelten Patienten.

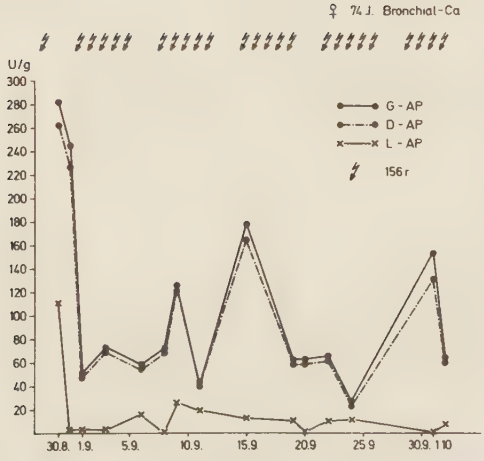


Abb. 10: Verlaufskontrolle bei Radiotherapie

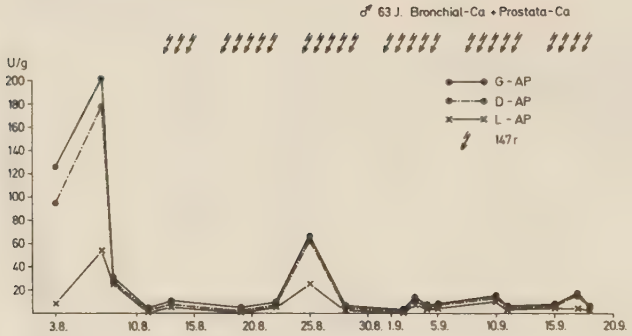


Abb. 11: Radiotherapie

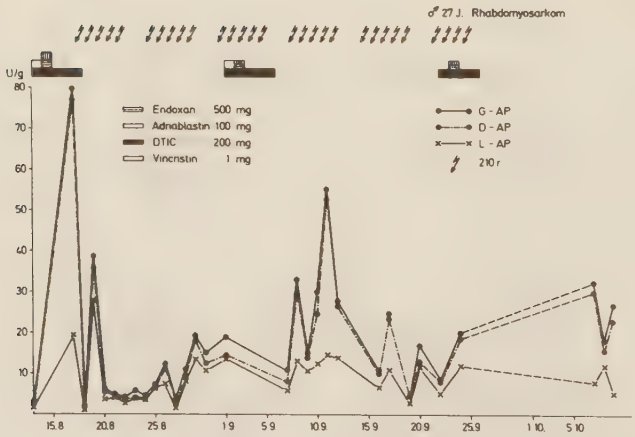


Abb. 12: Verlaufskontrolle bei kombinierter zytostatischer Therapie und Radiotherapie.

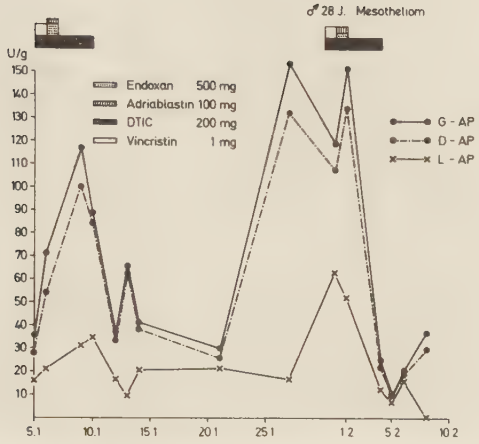


Abb. 13: Verlaufskontrolle unter cytostatischer Behandlung.

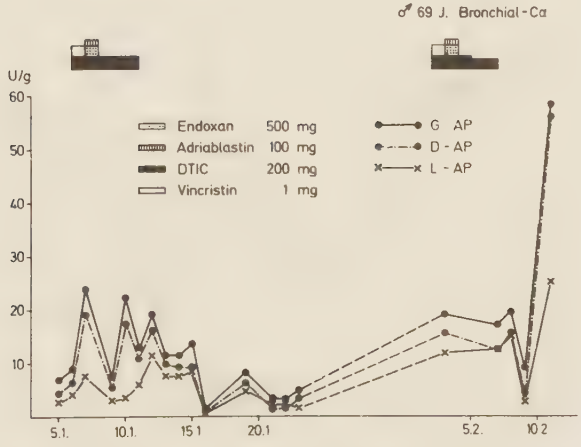


Abb. 14: Verlaufskontrolle unter cytostatischer Behandlung.

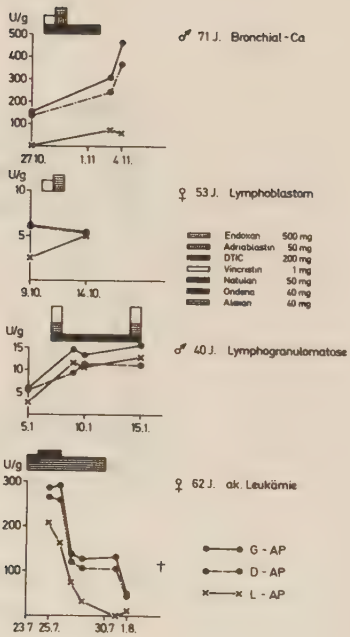


Abb. 15: Verlaufskontrolle unter cytostatischer Behandlung.

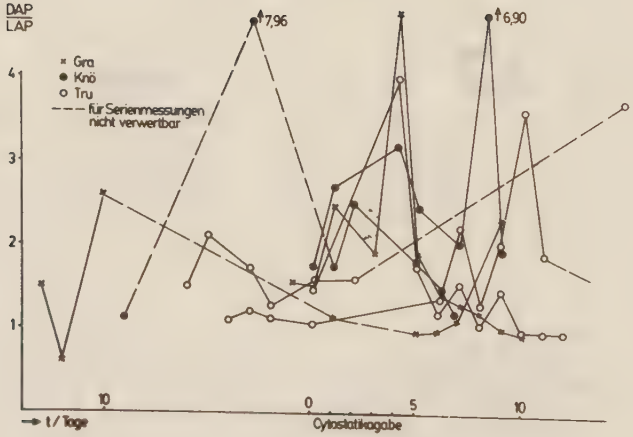


Abb. 16: D-AP/L-AP - Quotient unter Cytostatikagabe im Verlauf.

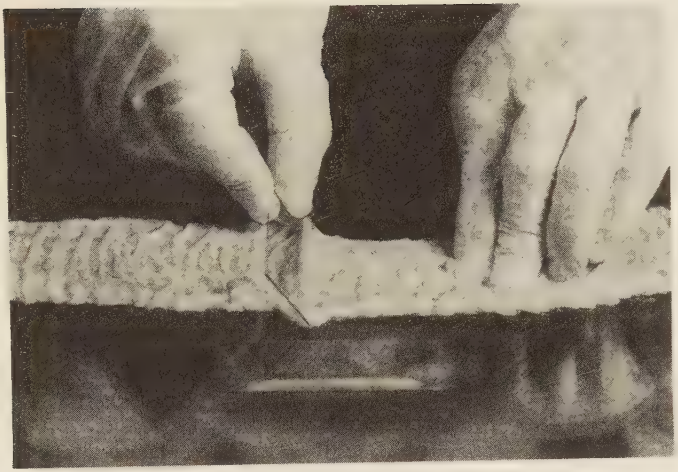


Abb. 17: Methode zur Abschilferung der Darmmukosa.

11. Literaturverzeichnis

1 Axen, R.; Porath, J.; Ernback, S.:
Nature 214 (1967), 1302

2 Benić, V.; Fišer-Herman, M.:
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8 (1970), 458

3 Benić, V.; Fišer-Herman, M:
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 13 (1975), 437

4 Bessey, OA.; Lowry, O.H.; Brock, M.J.:
J. biol. Chem. 164 (1946), 321

5 Boyer, S.H.:
Ann.N.Y. Acad. Sci. 103 (1963), 938

6 Caspary, W.F.:
Z. Gastroenterologie 13 (1975) Suppl. 7, 223

7 Deutsche Gesellschaft für Klin. Chemie:
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8 (1970), 658; 10 (1972), 182

8 Doellgast, G.J.; Silver, M.; Fishman, L.; Guenther, R.A.
in: Fishman, W.H. und Sell, S.:
Onco-developmental gene expression, Academic Press,
New York, San Francisco, London 1976, p. 737

9 Fishman, W.H.:
Ann. N.Y. Acad. Sci. 166 (1969), 745

10 Fishman, L.; Inglis, N.R.; Fishman, W.H.:
Clin. Chim. Acta 38 (1972), 75

11 Fishman, W.H.:
Am. J. Med. 56 (1974), 617

12 Fishman, W.H.; Ghosh, N.K.:
Adv. Clin. Chem. 10 (1967), 255

13 Fishman, W.H.; Inglis, N.R.; Green, S.; Anstiss, C.L.; Ghosh, N.K.; Reif, A.E.; Rustigan, R.; Krant, M.J.; Stolbach, L.L.:
Nature 219 (1968), 697

14 Fishman, W.H.; Inglis, N.R.; Stolbach, L.L.; Krant, M.J.:
Cancer Res. 28 (1968), 150

15 Fishman, W.H.:
Prot. Biol. Fluids 24 (1976), 391

16 Green, S.; Anstiss, C.L.; Fishman, W.H.:
Enzymology 41 (1971), 9

17 Hugon, J.; Borgers, M.:
J. Histochem. Cytochem. 14 (1966), 629

18 Ihm, P.:
Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre 86 (1974), 54

19 Jacoby, B.; Bagshawe, K.D.:
Cancer Res. 32 (1972), 2413

20 Lehmann, F.-G.:
Biochem. Biophys. Acta 235 (1971), 259

21 Lehmann, F.-G.:
Prot. Biol. Fluids 24 (1976), 89

22 Lehmann, F.-G.:
Clin. Chim. Acta 65 (1975), 257

23 Lehmann, F.-G.:
Digestion 12 (1975), 123

24 Lehmann, F.-G.:
Unpublizierte Ergebnisse

25 Lin, C.W.; Fishman, W.H.:
J. Biol. Chem. 247 (1972), 3082

26 Neumann, S.:
Kontakte 1 (1978), 10

27 Sachs, L.:
Angewandte Statistik, Springer-Verlag Heidelberg
4. Auflage (1974)

28 Sandborn, E.B.; Makita, T.:
J. Cell. Biol. 43 (1969), 121

29 Schlamowitz, M.; Bodansky, O.:
J. Biol. Chem. 234 (1959), 1433

30 Schultze, H.E.; Schwick, G.:
Clin. Chim. Acta 4 (1959), 15

31 Siegenthaler, W.; Richterich, R.:
Klin. Pathophysiologie, Springer-Verlag Heidelberg
(1973), S. 180

32 Sussman, H.H.; Small, P.A.; Cotlove, E.:
J. Biol. Chem. 243 (1968), 160

33 Suzuki, H.; Jino, S.; Endo, Y.; Torü, M.; Miki, K.; Oda, T.:
Ann. N.Y. Acad. Sci. 259 (1975), 309

Lebenslauf

Am 4.11.1948 wurde ich als Sohn des Facharztes für Innere Krankheiten Dr. Erich Cramer und seiner Ehefrau Ilse, geb. Schött, in Rodheim/Bieber geboren.

Von 1955 bis 1959 besuchte ich die Volksschule in Rodheim/Bieber, anschließend von 1959 bis 1962 das Herder-Gymnasium in Gießen, von 1962 bis 1963 das Dr. Richter Gymnasium mit angeschlossenem Internat in Kelkheim/Ts und von 1963 bis zum Abitur 1968 das Aufbaugymnasium in Friedberg/Hessen.
Nach der Reifeprüfung begann ich das Studium der Naturwissenschaften an der Philipps-Universität Marburg.

Nach 3 Semestern wurde ich für 18 Monate zur Bundeswehr einberufen, die ich als Fähnrich der Reserve im Sanitätswesen verließ.

Im WS 1971 begann ich das Studium der Medizin wiederum an der Philipps-Universität Marburg, an der ich am 5.4.1972 die naturwissenschaftliche und am 14.3.1974 die ärztliche Vorprüfung bestand.
Am 28.7.1977 schloß ich mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

Am 8.9.1977 vermählte ich mich mit der Apothekerin Ursula Münster.

Seit Oktober 1977 absolviere ich mein Medizinal-assistentenjahr im Kreiskrankenhaus Leer.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Amon, Aurich, Buchholz, Castenholz, Dimroth, Exner, Friederich, Graul, Haberich, Hamelmann, Hardewig, Hensel, Hering, Hermann, Heß, Hilgermann, Hort, Huch, Jacob, Joseph, Karlson, Klaus, Kleinasser, Köcke, Koransky, Martini, Maroske, Nultsch, Petry, Pots, Richter, Rodeck, Rohen, Schmidt, Schmitz-Moormann, Schneider, Siegert, Straub, Thönes, Uhlarik, Walcher, Willenbockel.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. F.-G. Lehmann für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit meinen ganz besonderen Dank aussprechen.

Herrn Prof. Dr. P. Ihm vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation möchte ich für die Beratung bei der statistischen Auswertung und Benutzung der Einrichtung des Rechenzentrums danken.

Weiterhin bedanke ich mich bei den Ärzten der Medizinischen Klinik für die Hilfe bei der Beschaffung des Materials.

Außerdem danke ich Frau M. Beusch und Frau I. Zengel für die Einarbeitung in die Methodik.